LIBERACION DE HISTAMINA POR MORFINA A NIVEL CUTANEO EN EL HOMBRE, COMO POSIBLE METODO DE ESTUDIO DE ESTABILIZADORES DE LOS MASTOCITOS

Roberto Saucedo Sanchez

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

Curso de 1986 a 1987 **Folio** 221 vta **Número** 413

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Roberto Saucedo Sanchez, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente tema, que libremente había elegido: Liberación de Histamina por morfina a nivel cutaneo en el Hombre como posible metodo de estudio de estabilizadores de los mastocitos

Terminada la lectura y contestadas las objecciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este le calificó de Apto cum laude

Granada 16 de Junio de 1987.

El Secretario del Tribunal,

EL PRESIDENTE,

El Vocal, El Vocal, El Vocal,

Firma del Graduando

INVESTIDURA.. En el día de la fecha se ha conferido a D. .....
..... el Grado de Doctor en la Facultad de .....
conforme a lo prevenido en las disposiciones vigentes.

Granada.....de..... .....de 19.....

EL DECANO,

CERTIFICO: Que el Acta que antecede concuerda con la del expediente del interesado remitida a la Secretaría de la Universidad.

Granada.....de.....de 19.....

El Catedrático Secretario,

V.º B.º
EL DECANO,

D. Sergio Erill Sáez, Catedrático de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, certifica que el trabajo de Tesis Doctoral **"Liberación de histamina por morfina a nivel cutáneo en el hombre, como posible método de estudio de estabilizadores de los mastocitos"**, que presenta D. Roberto Saucedo Sanchez, ha sido realizada bajo mi dirección.

Granada 14 de Abril de 1987

Fdo: Sergio Erill Sáez

Vº Bº
EL PONENTE

Fdo: Manuel Garcia Morillas

A MIS PADRES

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento al Prof. Sergio Erill, Director de esta Tesis, por la dedicación, interés, paciencia e inestimable ayuda que me prestó en la realización de la misma.

Asimismo mi agradecimiento al Prof. Roberto Saucedo Aranda que en su doble condición de maestro y padre, ha representado el apoyo moral en los momento dificiles de la realización de esta Tesis, al mismo tiempo que un eficaz e incansable colaborador en muchos aspectos de la misma.

Igualmente resaltar el constante estimulo recibido de los Profesores Manuel García Morillas y Emilio Puche Cañas, expresión de su amistad y compañerismo.

A todos los miembros del Departamento de Farmacología por su constante apoyo y colaboración desinteresada.

A todos los demás, no mencionados expresamente, y que en algún momento me ofrecieron su inestimable ayuda y amistad.

INDICE

INTRODUCCION

Biología celular del mastocito 2

1. Localización y morfología 2

2. Activación y degranulación vía IgE 5

3. Mediadores químicos 13

4. Regulación neurohormonal 30

5. Funciones del mastocito 34

Mecanismos de las acciones de los fármacos estudiados sobre los mastocitos 41

1. Morfina 41

2. Buprenorfina 59

3. Naloxona 59

4. Astemizol 60

5. Oxatomida 61

6. Diltiazem 64

JUSTIFICACION DEL TRABAJO 66

MATERIAL Y METODOS 70

RESULTADOS

A) Efectos farmacológicos en la inyección intradérmica de morfina en el hombre: Curva dosis-respuesta

1. Resultados experimentales 96

2. Análisis de la relación dosis-respuesta a la morfina 96

a) Rango superior de dosis (50, 10 y 5 mcg) ... 99

b) Rango inferior de dosis (1, 0.1, y 0.05 mcg) 99

B) Influencia de la naloxona sobre los efectos de la morfina intradérmica:

1. Resultados experimentales 100

2. Resultados obtenidos con los controles de suero fisiológico e histamina 104

C) Influencia de los anithistaminicos convencionales y de los de acción estabilizadora de los mastocitos sobre los efectos de la morfina intradérmica:

1. Resultados experimentales 105

2. Análisis de la relación dosis-respuesta 105

3. Análisis comparativo del grado de antagonismo de astemizol y oxatomida 106

D) Influencia de los bloqueadores de los canales lentos del calcio sobre los efectos de la morfina intradérmica:

1. Estudio con dosis únicas de diltiazem 108

2. Estudio con dosis múltiples de diltiazem 108

E) Comparación de los efectos de la morfina y buprenorfina por vía intradérmica:

1. Resultados experimentales 109

2. Análisis de la relación dosis-respuesta a la buprenorfina 110

DISCUSION 112

CONCLUSIONES 126

TABLAS Y GRAFICAS 129

BIBLIOGRAFIA 170

INTRODUCCION

BIOLOGIA CELULAR DEL MASTOCITO

Localización y Morfologia

Los mastocitos se encuentran principalmente en la piel y conducto respiratorio y gastrointestinal y derivan de células de la médula ósea (331, 327).

Varian ampliamente en tamaño y forma. Las modernas técnicas de disociación enzimática a partir del tejido intacto (307, 278, 309, 53, 273) han permitido su mejor estudio, revelando la microscopía electrónica que los mastocitos así disociados permanecen morfológicamente bien preservados y comparables a los observados en los tejidos pulmonar (198, 84, 194, 267, 272) e intestinal (194, 81, 85), mucosa gingival (364) y piel (38, 101, 149, 187, 188, 348).

Los mastocitos presentan en la superficie celular pliegues de 1-2 mcm de longitud, con una distribución por zonas. Estos pliegues pueden ser vistos también formando vacuolas en el citoplasma, justo debajo de la superficie celular (45, 53). Pueden observarse, asimismo, numerosos filamentos localizados en la región perinuclear y unos pocos más finos y, generalmente, desorganizados, alrededor de los pliegues intracelulares y bajo la membrana plasmática. El núcleo es único, unilobulado y excéntrico,

con el aparato de Golgi próximo a él. Unas pocas mitocondrias, el centriolo y microtúbulos están localizados principalmente en la porción central de la célula (53, 81, 84, 131, 188).

Pero, sin duda, lo más caracteristico de estas células, es la presencia de numerosos gránulos metacromáticos intracelulares, cuyo contenido puede ser de dos tipos, fundamentalmente. En la gran mayoria (90-95%) es de estructura cristalina (81, 194, 364, 53, 101) siendo el resto de tipo amorfo, es decir, sin estructura interna evidenciable ni aún bajo exámen de alta resolución (53, 188, 194) y su tamaño es mayor que el de los gránulos de contenido cristalino. No obstante, su material interno es, presumiblemente, el mismo, ya que se ha observado que tras la estimulación de la célula se produce la transformación del contenido cristalino en amorfo (38, 92, 149, 187, 364).

La importancia funcional de los gránulos de contenido amorfo, no está aclarada. Podrían representar gránulos de reciente formación y/o constituir una reserva funcional para una descarga inicial más rápida (38, 187, 53).

La estructura cristalina posiblemente representa un estado de máxima concentración del contenido granular (101)

lo que estaría en consonancia con los datos obtenidos a partir de los gránulos aislados de mastocitos de rata, que indican fuertes interacciones iónicas entre heparina, histamina y la proteina catiónica quimasa (375).

Finalmente, la sugerencia de que los gránulos cristalinos de los mastocitos humanos son una forma de almacenamiento, se basa en la observación de la transformación de su contenido a la forma amorfa, antes de la descarga (38, 92, 149, 187, 364), lo que, además, sugiere la al menos parcial solubilización de dicho contenido de estructura cristalina y concuerda con el mayor diámetro de los gránulos de contenido amorfo a consecuencia del aumento de la presión osmótica de su interior, por la solubilización (53). El mecanismo intimo por el que se produciria tal solubilización no ha sido aclarado, pero el hecho de no tener lugar en ausencia de iones Ca hace pensar en la participación de éste en el proceso (101, 270).

La morfología de la descarga de los mastocitos humanos es similar a la que tiene lugar en otros muchos tipos celulares, con procesos de estimulación-liberación (260), con la excepción de que los gránulos de los mastocitos, para descargar su contenido en el exterior, no necesariamente lo hacen fusionándose directamente con la membrana celular, sino que gran número de ellos descargan en otros

gránulos ya en comunicación con el espacio extracelular (53). Este mismo fenómeno ha podido ser observado en mastocitos de animales de experimentación (194, 290).

Activación y Degranulación

Hasta donde se sabe, la combinación de las IgE con su receptor, no produce ningún fenómeno en la célula blanco (232, 162, 132, 159). Es solamente cuando el anticuerpo así unido se combina con su correspondiente antigeno, que la secuencia de activación comienza en el mastocito ó basófilo, la cual finalizará con el vaciamiento del contenido de los gránulos intracelulares en el exterior (185, 366, 118, 279, 362, 374).

La IgE no es el único anticuerpo homocitotrópico para los mastocitos y basófilos. Algunas subclases de anticuerpos pertenecientes a la serie IgG se ha demostrado que pueden causar la degranulación celular (160, 141, 261, 142).

Más aún, existe una amplia serie de factores de naturaleza no inmunoglobulínica que pueden activar los mastocitos, como anestésicos (89, 193, 340), relajantes musculares (tubocurarina, pancuronio, etc) (7, 245, 68, 226, 224, 265, 335, 342), barbitúricos (214, 89), compuestos

básicos (atropina, meperidina, quinina, etc) (295, 301, 193), medios de contraste (40, 289), los dextranos (109, 120) y otros compuestos utilizados en investigación, como el ionóforo A23187 (76, 120), el llamado compuesto 48/80 (82, 168, 212, 290) y el fluoruro sódico (5).

Del mismo modo se comporta la morfina, de la que nos ocuparemos más adelante.

Los mecanismos de activación desarrollados por cada uno de estos variados factores, son probablemente diferentes, de igual manera que el mecanismo de activación de los mastocitos puede ser diferente al de los basófilos.

Finalmente, el grado o intensidad de la degranulación de los mastocitos y basófilos está controlada vía sistema nervioso autónomo, así como por algunos de los mediadores químicos liberados, lo que analizaremos con posterioridad.

Comenzaremos por estudiar en primer lugar la activación de los mastocitos mediante la formación de un puente de antigeno especifico, con dos ó más moléculas de IgE unidas a su receptor de superficie. Esta activación puede ser dividida en varios pasos cuya secuencia exacta no es conocida aún con certeza, por lo que cada paso queda definido por el hecho de que pueda ser bloqueado por un

inhibidor característico.

Metilación de los fosfolipidos de membrana: La metilación de los fosfolipidos modifica la viscosidad de la membrana aumentando su fluidez, lo que facilita el movimiento lateral de los receptores, paso indispensable para la continuidad de la secuencia (185).

Como se recordará, los lipidos están representados en las membranas celulares, formando la doble capa lipidica y condicionando en gran medida su fluidez, el grado de la cual varía bajo la influencia de dos factores, principalmente: su contenido en colesterol y el grado de insaturación de las cadenas laterales de los ácidos grasos de los fosfolipidos. La activación celular conduce a cambios en el metabolismo de los fofolipidos en el sentido, entre otras cosas, de enriquecer su contenido en ácidos grasos poliinsaturados, lo que disminuye la rigidez de su empaquetamiento, haciendo más fluida la membrana celular y alterando entre otras, sus funciones de transporte transmembrana (151, 239).

A nivel molecular, esto ocurre merced a la activación de dos enzimas de membrana, que son la metiltransferasa I y II de fosfolipidos (PMT I y PMT II). Las dos enzimas se encuentran situadas sobre las caras opuestas de la

membrana. La PMT I sobre la cara citoplasmática y la PMT II sobre la exterior.

Esta especial localización condiciona la distribución de los fosfolipidos que son substrato para ambas enzimas: las fosfatidil-etanolaminas (PE), substrato de la PMT I, se encuentran mayoritariamente en la cara citoplasmática, mientras que las fosfatidil-colinas (PC), substrato de la PMT II, lo son en la cara externa. La PMT I metila las PE convirtiéndolas en fosfatidil-N-monometiletanolamina (PME). Las PME son entonces convertidas por la PMT II en fosfatidil-colinas por la adición de dos grupos metilos más. Las moléculas de fosfolipido asi metiladas son entonces trasladadas desde la cara citoplasmática de la membrana a la capa exterior, lo que disminuye la viscosidad lipidica y de ahi que aumente la fluidez de la membrana (23, 159, 151).

Hoy se admite que este hecho, en concreto, responsabiliza al menos, los tres principales cambios que pueden demostrarse en la membrana celular: se afecta la función de la ATPasa-dependiente de Ca^{++}, enzima que regula la salida de Ca^{++}, desde la célula. Dicha enzima está rodeada en la membrana por un anillo de fosfolipidos que al disminuir su viscosidad lo alteran de tal forma que los canales del Ca^{++} permanecen abiertos permitiendo su entrada

masiva al interior de la célula (111, 114, 151, 159, 112).

Por idéntico motivo resulta alterada la función de la ATPasa Na-K y, por tanto, el intercambio de estos iones a través de la membrana (63, 72, 73).

Asimismo y por un mecanismo desconocido, resulta activada la adenilciclasa, lo que incrementa los niveles de AMPc en el citoplasma (208).

Los dos tipos de metiltransferasas pueden ser inhibidos por la S-isobutiril-3-diazoadenosina (185, 159, 26).

En este punto, la importancia del influjo de iones Ca^{++} a la célula para iniciar la exocitosis es critica, siendo actualmente muchas la pruebas que respaldan esta hipótesis, tales como las siguientes: La respuesta secretora al Ag falla si se elimina el calcio extracelular (56, 15). Los quelantes del calcio detienen la secreción, si se añaden durante la respuesta al Ag (93, 114, 204, 340). En ausencia de calcio la interacción del Ag y la IgE unida a la célula, todavia se produce y causa una activación tal que al agregar calcio después, se provoca la secreción de histamina (115. 121). La exposición al Ag causa aumento de la captación de calcio (113). Procedimientos que promueven el aflujo de calcio o elevan de otro modo

las concentraciones intracelulares de calcio (microinyección de Ca^{++} ó exposición a los ionóforos de Ca^{++}) bastan para iniciar la secreción de histamina por exocitosis en ausencia de Ag (73, 82, 111, 109, 269).

Activación de la serin-esterasa: El influjo de iones Ca^{++} pone al descubierto (o permite que esto pueda ocurrir) el sitio activo de una proesterasa, la cual está también probablemente asociada con la membrana celular. La activación de nuevas moléculas de proesterasa tiene lugar entonces de forma autocatalitica por las propias moléculas activas de la enzima (114, 375).

La función de esta esterasa es similar a la de la quimiotripsina y puede ser necesaria para que se produzca la alteración de los gránulos que es mediada por microfilamentos o para conseguir su fusión a la membrana celular (341, 239).

Este paso puede ser inhibido por el diisopropilfluorofosfato (DFP) (185).

Paso con requerimiento de energia: La fuente de energia es la glucosa y su obtención a partir de ella se realiza a través de la glicolisis (82).

Se desconoce con precisión en qué emplea la energia el proceso de activación celular generada en este paso, pero es probable que sea utilizada en el movimiento de los gránulos, mediado por microfilamentos, a lo largo de los microtúbulos ó de la membrana celular (131).

Este paso puede ser inhibido con la deprivación de glucosa, acompañada, por ejemplo, con la adición de un inhibidor metabólico, como es la 2-deoxiglucosa (2-DG) (95).

Segundo paso dependiente de Ca^{++}: En mitad del proceso de activación surge la necesidad adicional de iones Ca^{++} independientemente del influjo inicial de dichos iones dentro de la célula (111).

Esta nueva necesidad de iones calcio intracelulares, probablemente esté relacionada con la activación de las proteinas contráctiles que forman el esqueleto celular (341).

Este paso es modulado por la fosforilación que cataliza una kinasa dependiente de AMPc (375, 317, 369) y puede ser inhibido en presencia de EDTA (95, 246, 94).

Cambios en los niveles de AMPc intracelular: Este es el paso regulador más importante de toda la secuencia de activación.

En efecto, es el determinante de la continuidad o no de la secuencia ya iniciada y, en caso afirmativo, condicionará el grado de intensidad en que la degranulación tendrá lugar (176, 208).

Un determinado incremento del nivel intracelular de AMPc enlentece o detiene la secuencia, mientras que una caida en dicho nivel generalmente permite la finalización de la secuencia de activación conduciendo a la degranulación (175, 169, 37).

Una modulación similar del proceso puede también ocurrir a través de la producción de GMPc y parece ser que es la interacción combinada de estos dos productos la que determina el grado de degranulación. Los niveles intracelulares de ambos compuestos están determinados por señales procedentes del exterior celular, de tal forma que sirven como "segundos mensajeros" retransmitiendo en el interior de la célula las órdenes de "primeros mensajeros" tales como hormonas o neurotransmisores (118, 110, 167).

La producción de AMPc a partir de ATP es catalizada por el enzima adenilciclasa, el cual consta, al menos, de dos componentes que son la proteina reguladora y la catalizadora de la conversión (77, 2).

El complejo es activado por la unión de GTP a la proteina reguladora. Pero ya que dicho GTP unido es rápidamente hidrolizado a GDP por el enzima GTPasa, el complejo normalmente sólo muestra una baja actividad de ciclasa. Para que ésta aumente, se requiere la intervención de factores que favorecen la retención del GTP unido a la proteina reguladora (176, 208).

Liberación de mediadores: Como consecuencia de los pasos precedentes, los gránulos cargados de sustancias altamente activas o mediadores liberarian su contenido en el espacio extracelular.

Caracteristicas de los mediadores: La degranulación inunda el medio circundante a la célula implicada, de gran número de compuestos farmacológicamente activos capaces de ejercer una amplia gama de efectos. Algunos de estos compuestos, los mediadores primarios, fueron sintetizados previamente a la degranulación, encontrándose almacenados en los gránulos. Otros, los mediadores secundarios, son sintetizados solamente después de la activación o resultan de procesos que tienen lugar durante la citada degranulación (361).

Mediadiores primarios: Se encuentran almacenados en la matriz de los gránulos, unidos a ella por fuerzas elec-

trostáticas ó de otras clases ó en forma soluble (101, 347).

Los unidos electrostáticamente son liberados por intercambio de iones, principalmente Na, presente en alta concentración en el medio extracelular. Los unidos por fuerzas no electrostáticas son liberados por mecanismos distintos al citado, pero aún no bien precisados. Los mediadores solubles se liberan a partir de la matriz por simple difusión (295, 270, 308, 311).

Histamina

O beta-imidazoletilamina es, como su nombre indica, un derivado del aminoácido histidina.

La histamina en los mastocitos y basófilos es almacenada en los gránulos, unida a la heparina por fuerzas electrostáticas, siendo protegida en este estado, de la degradación enzimática (83).

Cuando es liberada se une a sus células blanco a través de receptores especificos. Esta unión puede ser inhibida por diversas sustancias llamadas antihistaminicos, los cuales compiten con ella por su unión a los receptores especificos.

Los distintos antihistaminicos permiten distinguir dos clases de receptores denominados H_1 y H_2. Los primeros pueden ser bloqueados por los llamados antihistaminicos clásicos (descubiertos en primer lugar) (10), mientras que los segundos pueden serlo por un grupo más reciente de antihistaminicos, tales como la cimetidina, ranitidina, etc. (32, 57, 153).

Las dos clases de receptores tienen diferentes distribuciones tisulares, de forma que los efectos de la histamina serán mediados de forma absoluta o predominante por uno u otro tipo de receptor según el tejido de que se trate (257, 97, 323, 42, 292).

En determinadas circunstancias, como es el caso de la inflamación, cada tipo de receptor al ser estimulado por la histamina, conduce a efectos opuestos sobre el proceso: el estimulo H_1 favorece el proceso inflamatorio mientras que el H_2 tiende a inhibirlo (203, 213, 173).

Los tres sistemas principales blanco de la histamina son los vasos sanguineos, la fibra muscular lisa y las glándulas exocrinas.

El efecto sobre el sistema vascular para una misma especie animal varia según el diámetro de los vasos. En ge-

neral, los grandes vasos y arteriolas se contraen por la acción de la histamina, mientras que los precapilares, la red capilar y las vénulas se dilatan. La constricción arteriolar por histamina es intensa en roedores y débil en felinos, mientras que, por el contrario, en cánidos, primates y humanos el efecto es arteriodilatador. Estas observaciones han de tenerse en cuenta a la hora de valorar la diversidad de respuestas a la IgE en las diferentes especies (277, 275, 286, 148).

En el hombre el efecto final es una menor resistencia periférica total y caida de la presión arterial y este efecto parece mediado por receptores H_1 y H_2 (257).

Asimismo, la histamina determina un aumento de la permeabilidad de los vasos de la microcirculación, con paso de proteinas y liquidos plasmáticos al espacio extracelular y formación de edema. Este efecto parece mediado, en gran parte, por receptores H_1 (22, 321, 326).

Cuando se aplica una inyección intradérmica de histamina, se produce una triada caracteristica de fenómenos, llamada "triple respuesta" (LEWIS, 1927) formada por:

1. Una mancha roja (mácula) localizada, que se extiende unos milimetros alrededor del sitio de la inyección, aparece a los pocos segundos, llega al máximo en un

minuto y pronto cobra un tinte azulado. Se debe al efecto vasodilatador directo de la histamina sobre los pequeños vasos sanguineos.

2. Una mancha de color rojo más vivo (eritema) de contorno irregular que se extiende aproximadamente 1 cm más allá de la mancha roja original y se desarrolla más lentamente. Se debe a reflejos axónicos inducidos por la histamina, que causan vasodilatación indirectamente.

3. Una roncha (pápula) discernible en 1 ó 2 minutos que ocupa la misma área que la mácula original en el sitio de inyección. Refleja el efecto de la histamina de aumento de permeabilidad capilar y consiguiente edema.

Es de destacar, asimismo, su efecto sobre el músculo liso bronquial, mediado por receptores H_1 que determina bronconstricción (319, 51, 69, 245, 310, 324, 359).

Otras acciones de la histamina no serán citadas por quedar fuera del interés del presente estudio.

Serotonina

O 5-hidroxitriptamina, deriva del aminoácido triptófano.

En humanos esta ausente de los mastocitos, por lo que no participa en las respuestas mediadas por IgE. Si lo hace, en cambio, en otras especies, como los roedores (51, 319, 326, 361).

Factores quimiotácticos

Entre los mediadores primarios liberados existen, al menos, tres FQ diferentes, los cuales van a actuar sobre los granulocitos, provocando su migración al lugar de activación.

Ellos son: el factor quimiotáctico eosinofilico de la anafilaxis (ECF-A), el factor quimiotáctico de los eosinófilos de peso molecular medio (IMW-ECF) (276) y el factor quimiotáctico de los neutrófilos de alto peso molecular (HMW-NCF) (181, 242, 157).

De los tres, es el primero el que ha sido estudiado más extensamente. Sus componentes activos son dos tetrapéptidos capaces de interaccionar con la superficie del eosinófilo a través de sus aminoácidos terminales y en una región hidrofóbica de la membrana celular iniciando la quimiotaxis dependiente de un gradiente de concentración.

El otro terminal de cada tetrapéptido con un grupo carboxilo fuertemente cargado interacciona con una zona iónica

de la membrana y determina la llamada "desactivación de los eosinófilos" o ausencia de respuesta a nuevos estímulos. La desactivación condiciona la aparición de gran número de receptores para el complemento sobre la superficie celular, indicando que la función del ECF-A es atraer quimiotácticamente a los eosinófilos al lugar en que se ha producido la respuesta a las IgE, atrapándolos en dicho lugar por la desactivación y a la vez preparándolos para su participación en la reacción inmune con la activación de sus receptores para el complemento, lo que dota a la célula de inmunoadherencia, primer paso para su imbricación en dicha reacción (58, 276, 366, 118, 185).

Bradiquinina

Es un péptido de 9 aminoácidos desdoblado por el enzima calicreina a partir de un precursor de la $alfa_2$-globulina del suero (118).

La liberación de bradiquinina a partir de la célula cebada en el hombre, provoca la contracción del müsculo liso incluyendo los bronquios y vasos sanguineos, aumenta la permeabilidad vascular, eleva la cantidad de secreción de moco de las glándulas mucosas, incluyendo los bronquiolos y estimula las fibras del dolor. Por tanto, la

bradiquinina podria participar en los sintomas de la rinitis alergica, del angioedema y del asma (83, 177).

Heparina

Es un proteinglicano intracelular compuesto por una cadena central peptidica con numerosas cadenas laterales de glucosaminglicanos. Esta especial estructura quimica responsabiliza la metacromasia caracteristica de los gránulos y forma un esqueleto al que permanecen unidos otros de los constituyentes de los gránulos (histamina y serotonina) (188, 331, 348, 347, 364).

Las tres funciones principales de la heparina son: la inhibición de la fibrinolisis del coágulo dependiente del factor Hageman, aumento de la activación de la diaminoxidasa encargada de la destrucción de la histamina liberada y supresión de la función del complemento (374, 319, 297, 363).

Estas tres funciones dan al mastocito la capacidad de regular fenómenos que conducen a su propia activación y degranulación, asi como de aquellos otros que son consecuencia de éstas.

Mediadores enzimáticos

Gran variedad de enzimas han sido localizados en los gránulos de los mastocitos tanto mediante técnicas de histoquimica (240, 280, 130, 241) como de fraccionamiento subcelular (195, 28, 219, 196), los cuales son liberados paralelamente a la histamina y demás mediadores primarios.

Los más importantes son: Quimasa, beta-hexosaminidasa, betaglucuronidasa, beta-delta-galactosidasa, N-acetil-beta-glucosaminidasa, arilsulfatasas (A,B,C), superóxido dismutasa, peroxidasa y fosfatasa ácida (198, 311).

No se conoce demasiado de sus funciones pero merece la pena citar que la quimasa parece ser la responsable de la transformación de las cadenas laterales de la heparina en su forma inactiva, siendo la disociación histamina-heparina un factor de activación para la quimasa (374. 375, 8).

Asimismo, la N-acetil-beta-glucosaminidasa tiene la capacidad de separar de las cadenas de la heparina restos de N-acetil-beta-glucosamina y, por tal motivo, puede degradar las paredes celulares bacterianas en fragmentos solubles (123, 287).

Mediadores secundarios

No se encuentran almacenados en los gránulos sino que solamente son generados después de que la degranulación ha tenido lugar, y lo son ya sea por los mastocitos o por otras células situadas en su entorno próximo. Algunos de ellos pueden ser liberados a partir de los fosfolipidos de membrana de esas otras células mencionadas y bajo la acción de los mediadores primarios (198, 242).

Aunque los mediadores primarios liberados por los mastocitos parecen desempeñar todos los papeles necesarios para la correcta modulación del microentorno en el punto de la inflamación, no obstante puede ser que los mediadores secundarios sean criticos para el total desarrollo de la respuesta local en el huesped.

Agrupados bajo la denominación común de "eicosanoides", son derivados lipidicos constituidos por las prostaglandinas, los leucotrienos, derivados hidroxilados e hidroxiperoxidados del ácido araquidónico, el PAF o factor activador de las plaquetas y ciertos ácidos fosfatidicos y bisofosfatidicos (196, 365, 233).

Las prostaglandinas (PG) derivan todas del ácido prostanoico. Poseen un núcleo ciclopentano al que se unen dos cadenas carbonadas. Según la constitución del núcleo es

posible distinguir diversas "clases" denominadas por las letras A, B, etc. hasta la I. El número de dobles enlaces en las cadenas laterales permite subdividir cada letra con un subindice del 1 al 3. Según la posición espacial de los hidroxilos del núcleo, las PG se anotarán como alfas (cis) o betas (trans). Las segundas son artificiales. Los tromboxanos derivan del ácido trombanoico con un núcleo heterociclico con un átomo de oxigeno (233, 27, 6).

Los leucotrienos (LT) son derivados del ácido araquidónico. Son sintetizados principalmente por los leucocitos (207, 103, 172), aunque también por los mastocitos y poseen 3 dobles enlaces conjugados (trienos).

En realidad poseen un cuarto doble enlace situado a distancia de los otros tres, que hace que se les coloque el subindice 4 por analogia con las PG. Las diferencias quimicas permiten distinguir 5 moléculas clasificadas desde la A_4 hasta la E_4 (34, 35).

Todos los eicosanoides se sintetizan en el organismo principalmente a partir del ácido araquidónico (308, 133, 159, 126, 271), el cual se encuentra en su mayor parte incorporado en forma de éster a los fosfolipidos de las membranas celulares (34, 273, 151, 239), siendo hidroli-

zados por la fosfolipasa A_2 (117, 379).

A su vez, la fosfolipasa A_2 sufre igualmente la influencia de fenómenos celulares complejos, ampliamente estudiados por Hirata y Axelrod (151), que pueden concretarse en la acción combinada de 2 proteinas: la calmodulina y la lipomodulina.

La 1ª activa la fosfolipasa A_2 mientras que la 2ª la inactiva. Ambas actuan en presencia de calcio (171, 199, 233, 152).

Via de la ciclooxigenasa. Las Prostaglandinas

El ácido araquidónico liberado por la fosfolipasa A_2 es el substrato de la ciclooxigenasa, enzima de membrana que existe en todos los tejidos, la cual crea el núcleo ciclopentano constituyendo los endoperóxidos PGG_2 y PGH_2, siendo este último, tras la acción de diversos enzimas el origen de las demás PG y TX (308, 171, 367).

Las PG producidas en las membranas celulares son activas allí donde han sido formadas, pues tienen una vida media corta (inferior a 2 mínutos y menos aún para el TxA_2 y la PGI_2) (249, 104, 143), siendo inactivadas en el citoplasma por diversos enzimas oxidantes y reductores (299).

Via de lipooxigenasas. Los leucotrienos.

Existen numerosas lipooxigenasas, pero sólo nos interesan 2 de ellas: la 12-L y la 5-L.

Ambos son enzimas solubles no membranarios (35). La 12--lipooxigenasa, enzima plaquetaria, permite la formación a partir del ácido araquidónico, del 12-HPETE y después del 12-HETE (238).

La 5-lipooxigenasa, enzima leucocitario, abre la via de los derivados hidroxilados y hidroperoxidados del ácido araquidónico (5-HPETE, 5-HETE) asi como a los leucotrienos (271).

Su actividad es calcio-dependiente y aumenta considerablemente en presencia de 12-HPETE (de ahi la importancia de las plaquetas en el desarrollo de las reacciones alérgicas e inflamatorias (207, 126).

A partir del LTA_4 de vida media corta (3-5 min) (233) se forma el LTB_4 ó bien la serie constituida por los LT C_4 a E_4, sabiéndose hoy que la mezcla de estos tres últimos es lo que conocemos como SRS-A (substancia de reacción lenta de la anafilaxis) (126, 298, 365, 207, 31, 220, 189).

Efectos de los eicosanoides en las reacciones de hipersensibilidad inmediata

Las manifestaciones de tipo alérgico en órganos tales como el pulmón, la mucosa nasal y ocular, la piel y el tracto gastrointestinal son debidas a toda una serie de sucesos fisiopatológicos que incluyen vasodilatación, incremento de permeabilidad capilar, contracción de fibra muscular lisa no vascular, infiltración leucocitaria, destrucción local de tejidos y posterior reparación.

Hoy sabemos el importante papel que juegan los eicosanoides en el desarrollo de tales sucesos biológicos.

Las prostaglandinas producidas por los mastocitos y en otras células inmunosupresoras, principalmente macrófagos, tras su activación por los mediadores primarios (233) contribuyen de diversa forma en la producción de dichos fenómenos típicos de las reacciones de hipersensibilidad inmediata.

La mayoria de sus acciones parecen estar mediadas por cambios en las contracciones intracelulares de AMPc (368, 212, 218, 367).

Así, en el asma el broncoespasmo sería favorecido por la PGD_2, $PGF_{2\ alfa}$ y TxA_2, mientras que se opondrian la

PGE_2 y la PGI_2 (225, 33, 303); el aumento de permeabilidad capilar y, por tanto, edema, seria favorecido por la PGE_2 (134, 113, 308, 361), mientras que la secreción mucosa lo sería por la $PGF_{2\ alfa}$, PG_2, PGI_2, PGA_2 y TxA_2 (51, 58, 98, 319, 206).

En otras entidades clinicas como la urticaria, rinitis y conjuntivitis alérgicas, mastocitosis, enfermedad celiaca, colaboran en la producción de la vasopermeabilidad cutánea y en la formación de edema, siendo al parecer la PGD_2 la más implicada (256, 326, 327, 347).

Por lo que respecta a los leucotrienos, los datos preliminares acerca de sus respuestas celulares humanas, indican que concentraciones minimas de estos agonistas producen los efectos caracteristicos de las reacciones de hipersensibilidad inmediata e inflamatorias, que citamos a continuación.

Efectos pulmonares: El LTD_4 parece ser el más potente de los componentes de la clásicamente conocida sustancia de reacción lenta de la anafilaxis (SRS-A) como espasmógeno de fibra muscular lisa no vascular (137).

En conjunto, los tres componentes de la SRS-A, LTC_4 LTD_4 y LTE_4 son potentes broncoconstrictores en varias espe-

cies incluyendo la humana, claramente más efectivos que la histamina (365, 70) siendo su acción, al parecer, más periférica que central en el arbol bronquial (298, 365, 137, 250) al mismo tiempo que parecen sensibilizar al pulmón frente a otros espasmógenos (302, 271).

Han demostrado igualmente inducir (principalmente LTC_4 y LTD_4) secreción mucosa en glándulas de vias aéreas en animales (170) y en el hombre (223).

LTC_4, D_4 y E_4 parecen ser importantes mediadores de la pérdida reversible de elasticidad pulmonar y de la inadecuada ventilación-perfusión con hipoxia, que se observa en asmáticos (250).

En conjunto, los leucotrienos constituyentes de la SRS-A, son los mediadores más importantes de la anfilaxis pulmonar.

Efectos vasculares: Los LTC_4, D_4 y E_4 aumentan la permeabilidad de las vénulas postcapilares con efectos mucho más potentes que los de la histamina (298, 31, 71, 50).

Parecen tener una acción directa sobre la pared de los vasos, ya que el efecto es rápido y no requiere de la presencia de otros mediadores ó de los leucocitos (298).

Por esta acción su efecto en la piel es la producción de pápula y eritema (325, 326, 50).

Por su parte, el LTB_4 tambien aumenta la permeabilidad capilar, pero menos eficazmente que los LT de SRS-A. Además, su acción es más lenta y requiere de la presencia de leucocitos adheridos a la pared vascular (31, 71, 298).

Tambien produce pápula y eritema en piel, pero con infiltrado cutáneo y lesión local (207, 325).

Efectos sobre las funciones de los leucocitos: LTB_4 tiene un efecto potente estimulando especificamente la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales y su extravasación (71, 298).

Potente factor quimiotáctico de neutrófilos, eosinófilos y monocitos (221) imita a los ionóforos microbianos en su capacidad de estimular el influjo celular de iones calcio (315) y puede inducir la liberación de enzimas por los neutrófilos humanos (314).

Factor activador de las plaquetas (PAF)

Es otro eicosanoide, mediador secundario en las reacciones de hipersensibilidad inmediata e inflamatorias, que

es liberado por los leucocitos previamente activados por los mediadores primarios de los mastocitos.

Determina la agregación plaquetaria y la liberación de las aminas contenidas en ellas (259).

Su precursor, el liso-PAF es liberado a partir de los fosfolípidos de membrana por las fosfolipasas A_2 (233).

Regulación neurohormonal de la degranulación de los mastocitos.

Mastocitos y basófilos tienen ambos tipos de receptores adrenérgicos (alfa, beta) y colinérgico (gamma) sobre su superficie (133, 175, 169, 37, 129) y pueden por tanto responder a estimulos que activan o bloquean dichos receptores.

Según la hipótesis de E.W. SUTHERLAND (337), el receptor beta-adrenergico (tipo $beta_2$) forma parte estructural con el enzima de membrana adenilciclasa, de forma que su activación por catecolaminas determina un incremento del nivel intracelular de AMPc y por tanto una disminución de la liberación de mediadores (189, 168, 209, 338).

Por su parte, la concentración intracelular de AMPc tam-

bién se eleva en la célula blanco, al recibir la estimulación externa de las prostaglandinas PGE_1 y PGE_2 (134, 212) e incluso por acción de la propia histamina, por sí sola (288) (receptor H_2) o del dimaprit, agonista H_2 (118, 210).

En consecuencia, parece haber una unidad catalitica de adenilatociclasa en la membrana celular que responde a una de tres ó más subunidades receptoras.

Tales subunidades receptoras pueden ser bloqueadas de manera independiente por fármacos: Asi, el receptor beta--adrenérgico es bloqueado por el propranolol (11, 12, 13, 14, 161), el receptor de histamina tipo H_2 puede ser bloqueado por la burimamida y cimetidina (173, 203, 246) y el receptor de prostaglandinas puede, posiblemente, ser bloqueado por la indometacina o por la aspirina (134, 118, 224).

Los basófilos y mastocitos en los cuales el receptor beta-adrenérgico es bloqueado por el propranolol, responden todavia a las prostaglandinas PGE_1 y PGE_2 con una elevación en el AMPc intracelular, así como a la histamina exógena. Mientras que si se les trata con burimamida o cimetidina, no responden a la histamina, pero si a la estimulación con adrenalina o PGE con un aumento de AMPc intracelular.

Los receptores alfa-adrenérgicos han sido menos estudiados.

Varios investigadores sugirieron que la ATPasa pudiera ser el receptor alfa. Competiría con la adenilciclasa por el ATP, formando AMP inactivo sin formación intermedia de AMPc. La noradrenalina y fenilefrina pueden estimular la ATPasa o utilizar ATP directamente para formar AMP inactivo. Tal desviación del ATP precursor provocaría una disminución del AMPc intracelular y esto, a su vez, daría por resultado un aumento en la liberación de mediadores a partir de los mastocitos y basófilos estimulados (208, 209).

El receptor colinérgico o receptor gamma en los mastocitos y basófilos parece ser la guanilciclasa, la cual puede actuar tanto en la membrana como en el citoplasma celular (324, 96, 384) y cuya activación por la acetilcolina transforma el GTP en GMPc.

En los mastocitos y basófilos, la elevación intracelular de GMPc está asociada con el aumento de la liberación de mediadores. Esta liberación puede ser bloqueada por la atropina (96, 118, 305).

Asimismo, tanto el AMPc como el GMPc son inactivados a

nucleótidos no cíclicos por las correspondientes adenil y guanilfosfodiesterasas (78, 159, 169, 176, 208, 319).

Aunque ambos enzimas son inhibidos por las metilxantinas como la teofilina, se ha demostrado que la adenilfosfodiesterasa es unas diez veces más sensible a la teofilina que la guanilfosfodiesterasa (176) por lo que el efecto final es un claro aumento de la concentración intracelular de AMPc y, por tanto, disminución de la liberación de mediadores (212, 209, 12, 296).

También lo mismo el ácido araquidónico que algunos de sus derivados, vía de la 5-lipoxigenasa (el 5-HPETE y el 5-HETE) parecen participar en la regulación neurohormonal de la liberación de mediadores por los mastocitos y basófilos, incrementando la liberación de histamina, pero, al parecer, no por una acción directa sino favoreciendo la liberación inducida por otros activadores como los antigenos (302, 224, 334, 333), de forma similar a como lo hace la indometacina (224) en sentido contrario, pudiendo, asimismo, invertir la inhibición de la liberación de mediadores causada por la activación de la adenilciclasa por agonistas H_2 (dimaprit) y PGE_2 (271, 274, 210, 263).

No está claro, en cambio, el mecanismo intimo de la ac-

ción proinflamatoria del ácido araquidónico y alguno de sus derivados.

Finalmente, los fragmentos C3a y C5a del complemento, tienen la capacidad de estimular la liberación de histamina por los mastocitos y basófilos (actividad de anafilotoxina) (125, 318, 131).

Al parecer, reaccionan con receptores celulares diferentes, debido a que la célula insensible a C3a continua respondiendo a C5a y viceversa (118, 363).

Funciones del mastocito

La participación de los mastocitos en procesos inflamatorios fué observada por primera vez por Paul EHRLICH (88) a finales del siglo XIX, reconociéndose en la actualidad su intervención en los fenómenos de hipersensibilidad, en la resistencia local a la extensión de los tumores, en procesos infecciosos y parasitarios, en la restauración de los tejidos, en la microcirculación y prevención de la trombosis, en el metabolismo óseo y en el de los lipidos.

No obstante, su papel exacto en estos fenómenos no siempre es bien conocido y, en cualquier caso, su demostración como postula CAMBAZARD (382) sólo ha podido progre-

sar paralelamente con el desarrollo de la información disponible sobre su biologia celular.

En sintesis, pueden diferenciarse 2 tipos generales de funciones de los mastocitos: las inmunológicas y las no inmunológicas.

PAPEL INMUNOLOGICO DEL MASTOCITO

A) MASTOCITOS E HIPERSENSIBILIDAD

1. Hipersensibilidad inmediata. Como se ha descrito anteriormente, es el tipo de reacción inmune donde el mastocito juega un papel central por intermedio de las IgE principalmente.

   La distribución de los mastocitos a nivel de todas las eventuales puertas de entrada (piel y mucosas) (331, 327) de elementos exógenos potencialmente nocivos o antigénicamente diferentes al huesped, le va a permitir mediante la degranulación, ser la primera célula inmunocompetente que actúa despues de una agresión antigénica.

   La respuesta mastocitaria es esencialmente secretora. No obstante, su capacidad de fagocitosis ha sido de-

mostrada por la presencia en sus gránulos intracelulares de ciertos elementos exteriores a la célula (Zymosan, etc.) (258) y por el hallazgo en su interior de hematies incluidos en fagolisosomas (330). Esta actividad, sin embargo, parece marginal.

En cambio, la degranulación representa el mecanismo de defensa habitual por el que el mastocito inicia y mantiene los fenómenos inflamatorios.

Asi, la vasodilatación capilar asociada a la lisis enzimática del tejido conjuntivo (49) dá lugar a un edema tisular local que favorece la difusión de anticuerpos y del antigeno que de esta forma podrá ponerse en contacto con otras células inmunes y otros mastocitos (118), asi como facilitar la liberación de los elementos de la matriz de los gránulos liberados (327), la difusión de factores quimiotácticos y el aflujo de otras células de la inflamación (366).

La regulación de estos fenómenos es compleja en razón de la interacción de los diferentes elementos implicados. Así, existe una potenciación recíproca entre histamina, SRS-A (LTC_4, LTD_4 y LTE_4) y ciertas prostaglandinas (218, 134) que, según su tipo, su concentración y los receptores afectados podrán acrecentar o

disminuir las secreciones mastocitarias y el quimiotactismo de los polinucleares (58, 242, 71).

Los macrófagos y los polinucleares atraidos al lugar de reacción liberan, tras su activación, SRS-A, LTB_4, PAF, ECF-A e hidrolasas lisosomiales, amplificando los fenómenos inflamatorios (103, 221, 314, 177, 259).

Los eosinófilos parecen jugar un papel, al menos, en parte, de moderadores, fagocitando los gránulos liberados, inhibiendo los mediadores (por histaminasas, arilsulfatasas, fosfolipasas y por la proteina catiónica del eosinófilo (127, 85) y disminuyendo la degranulación mediante un EDI (inhibidor eosinófilo de la degranulación (276).

Los linfocitos estimulados por el antígeno se multiplican liberando linfoquinas como la HRF (factor liberador de histamina) que favorece la liberación de histamina mastocitaria (357).

Esta histamina mastocitaria actúa esencialmente a nivel de las células T (receptores H_2) que liberan un HSF (factor supresor de histamina) (288) que produce un descenso en la liberación de linfoquinas (MIF, HRF ...) y una inhibición de la transformación linfoblás-

tica.

Ciertos linfocitos activados por el antigeno y bajo los efectos de la histamina, producen un "inhibidor quimiotáctico inducido por histamina" que actuando sobre los eosinófilos impide su migración posterior (191).

De esta forma, el mastocito centinela se encuentra, después de haber dado la alerta, en el centro de un formidable campo de batalla donde se cruzan diversas influencias contradictorias e interdependientes, las unas tendiendo a agravar el conflicto y las ctras a limitarlo.

2. Ciertos tipos de hipersensibilidad retardada. La llamada "hipersensibilidad basófila cutánea" de origen linfocitario, productores de un factor quimiotáctico de basófilos específico (86) que hace que el infiltrado celular tenga un 10% de basófilos complementados por un número mayor de mastocitos (180), tipico de las lesiones de dermatitis de contacto y ciertas enfermedades inmunes renales (66).

3. Ciertas enfermedades autoinmunes. Los mastocitos pueden ser activados por inmunocomplejos circulantes y,

como ya vimos, por ciertas fracciones del complemento (C3a y C5a) (125, 131, 318).

Así, su número y actividad está aumentado a nivel de las lesiones cutáneas del pénfigo y penfigoide (371), de la dermatitis herpetiforme, lupus eritematoso, dermatomiositis, vasculitis necrotizantes (328) y a nivel de las lesiones renales de la glomerulonefritis aguda (67).

4. Lesiones inflamatorias de patogenia inmunológica no clara.

Esclerodermia, eritema polimorfo, dermatitis atópica, liquen plano, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, pólipos nasales, etc. (235).

B) MASTOCITOS Y TUMORES

El número elevado de mastocitos en la zona tisular afectada por ciertos tumores es un hecho conocido de antiguo, donde actuarian contra los antigenos tumorales facilitando la acción de los anticuerpos citotóxicos, limitando la extensión tumoral y tanto en tumores benignos como malignos (54, 200, 329, 373).

C) MASTOCITOS E INFECCIONES

1. Infecciones bacterianas. Los mastocitos actúan en este

caso por sus mecanismos inmunológicos habituales, en enfermedades pulmonares (EPOC), digestivas (apendicitis, colecistitis, peritonitis), articulares (artritis inf. crónica), renales (pielonefritis crónica) o cutáneas (sifilis, tuberculosis).

2. Infecciones parasitarias. Los mastocitos juegan un papel fundamental en la defensa del organismo contra diversos parásitos intestinales, que degranulando masivamente a nivel del epitelio, aumentan la permeabilidad mucosa favoreciendo la migración de anticuerpos hacia la luz intestinal (236, 237).

OTRAS FUNCIONES NO INMUNOLOGICAS DEL MASTOCITO

1. En la cicatrización de tejidos y enfermedades del colágeno (183, 9).

2. En el metabolismo óseo (282, 116)

3. En el metabolismo lipídico (166)

4. Se ha sugerido un papel de osmorreceptor vascular (128).

Todas ellas funciones marginales, si se las compara con su papel central en los fenómenos de hipersensibilidad

inmediata.

MECANISMOS DE ACCION DE LOS FARMACOS ESTUDIADOS SOBRE LOS MASTOCITOS

Morfina

La capacidad de la morfina y otros derivados opiáceos de liberar histamina a partir de los mastocitos, tanto en humanos como en animales, es un hecho desde antiguo conocido y ampliamente recogido en la bibliografia mundial.

Ya en 1876, REEVES, J.C. estudiando los efectos de los opiáceos, administrados subcutáneamente, sobre la anestesia en humanos, observa signos de tipo inflamatorio en el punto de inyección (283).

SOLLMAN, T. y cols (1917) demuestran cómo la morfina induce la "triple respuesta" en la piel humana administrada intradérmicamente (322).

Desde el trabajo clásico de SCHMIDT y LIVINGSTON (1933) en el que se demostraba taquifilaxia del efecto hipotensor de la morfina en perros (304), se asumió que la histamina estaba implicada de alguna forma en las respuestas sistémicas a la morfina, aunque no existiese una prueba

directa de ello.

No obstante, las pruebas circunstanciales lo sugerian fuertemente: En estudios "in vitro", la morfina y otros opiáceos, determinaban la liberación de histamina en forma dosis-relacionada a partir de mastocitos pleurales y peritoneales aislados de rata, por exocitosis sin citolisis (89, 168, 138, 265).

En trabajos en órgano aislado usando preparaciones de músculos y piel perfundidas, de gatos y perros, diversos autores estudiaron los efectos vasculares de la morfina por liberación de histamina, con pérdida de resistencia vascular periférica (102, 216), así como el efecto de tres opiáceos naturales sobre el ileo aislado de cobaya, por su capacidad de liberar histamina (102) y el efecto de la meperidina inyectada intradérmicamente en piel de gato, que induce la liberación de histamina en forma dosis-relacionada (301).

Así mismo, estudios "in vivo" en animal entero, tambien parecen sugerir fuertemente la participación de la histamina en los fenómenos que se observan tras la administración de morfina y otros opiáceos, en animales de experimentación.

En efecto, tanto la morfina como la meperidina adminis-

tradas por vía intravenosa en perros, producen una importante caida de la presión arterial en pocos segundos (310, 102, 122, 3).

La disminución de la presión arterial es consecuencia, de una parte, de un efecto vasodilatador con acúmulo de sangre en la periferia (vasos de capacitancia) (358, 360), aunque en el territorio esplácnico en perros se produce una constricción de los esfínteres venosos hepáticos (no presentes en el hombre) con acúmulo de sangre en dicho territorio (135) y trasudación de fluido a la cavidad peritoneal (136) lo que en conjunto determina una disminución del volumen circulatorio total.

De otra parte, existe una dilatación arteriolar en los vasos de la microcirculación, con caída de las resistencias vasculares periféricas (vasos de resistencia) (43, 251).

Se pudo demostrar que las muestras de sangre tomadas en el momento mayor de hipotensión, contenian grandes cantidades de histamina, valorada por el método cualitativo del test del cobaya, el cual resultó negativo cuando las muestras de sangre fueron tomadas una vez la presión arterial se habia normalizado (362). Aún más, la administración previa de difenhidramina antagonista H_1 de la

histamina, bloqueaba parcialmente la aparición de hipotensión.

Finalmente, los perros desarrollaban tolerancia al efecto hipotensor, con repetidas dosis de meperidina (352) lo que hoy interpretamos como agotamiento de la histamina almacenada en los gránulos intracelulares de mastocitos y basófilos.

Esta última observación confirma la de SCHMIDT y LIVINGSTON con morfina, anteriormente comentada.

Más recientemente, trabajando también en perros, ha podido demostrarse incrementos en sangre de hasta 5 veces los basales de histamina, tras la administración de meperidina intravenosa (378).

Pero además de los efectos vasculares comentados, la morfina y otros opiáceos al ser administrados por vía intravenosa en animales, producen signos cutáneos indirectos "histamin-like" (304), así como la tipica "triple respuesta" (enrojecimiento, pápula y eritema) al ser inyectados intradérmicamente (102, 304, 301).

Junto con los estudios "in vitro" y los de experimentación animal referidos, existe una amplia información so-

bre observaciones casuales en clinica humana y estudios clinicos específicos que demuestran que la administración de determinados opiáceos en dosis habituales en humanos. puede conducir a taquicardia, hipotensión y vasodilatación periférica, signos todos ellos altamente similares a lo que se producen tras la infusión de histamina (174).

Ya en 1941, KREUGER, H. y cols., publican un resúmen de los casos clinicos comunicados de hipotensión, tras el uso de morfina y otros opiáceos en humanos, aún sin relacionar a la histamina en la patogenia de dicha complicación (192).

Igualmente, desde el más temprano uso clinico del opiáceo sintético meperidina, fueron comunicados numerosos casos de hipotensión alarmante tras su administración tanto intravenosa como intramuscular, aunque también sin referencias a la liberación de histamina (39, 124, 320).

Las primeras observaciones clinicas casuales que sugieren la participación de la histamina, tiene lugar en parturientas tratadas con opiáceos que desarrollaron de forma fulminante un estado de hipotensión severa y colapso circulatorio, presentando al mismo tiempo signos clinicos "histamin-like" (46, 381).

CHRISTIE; G. y cols (1958) comunicaron una de las primeras experiencias específicas tendentes a demostrar la participación de la histamina en la hipotensión por opiáceos.

Observamos cómo en pacientes con sobredosis de morfina (más de 100 mg) en severa hipotensión, la administración intravenosa de ciclicina, antagonista H_1 de la histamina, determinaba una recuperación al menos parcial de la presión arterial en todos los casos (59).

Desde entonces y hasta el principio de la década de los 80, ha existido una fuerte controversia sobre la participación de la histamina en los efectos cardiovasculares de la morfina y diversos opiáceos, en el hombre.

Durante este periodo la información ha consistido únicamente en evidencias indirectas consistentes, en su mayoría, en la demostración de la coincidencia en los pacientes, del efecto hipotensor de los opiáceos y la aparición en la piel de zonas de enrojecimiento y urticaria, habitualmente atribuidas a la liberación de histamina endógena (87, 295, 306, 215, 332, 205).

Mas aún, se pudo comprobar que tanto la hipotensión como las reacciones cutáneas acompañantes, tendían significa-

vamente a desaparecer, al disminuir la velocidad de infusión de la morfina en los pacientes, existiendo una adecuada correlación negativa entre velocidad de infusión y grado y frecuencia de aparición de los fenómenos adversos citados (217, 336, 332).

Se argumentaba que si bien la morfina y derivados tenían la capacidad de liberar histamina a partir de los mastocitos de la piel humana, demostrada tras su administración intradérmica o subcutánea, con la aparición de la tipica "triple respuesta" (262, 322, 300, 29), no obstante la interpretación correcta de la coincidencia de dichas manifestaciones cutáneas y los efectos vasculares hipotensores, en cada caso individual publicado, era la mayoria de las veces cuando menos difícil, sobre todo por el uso simultáneo de otros múltiples fármacos en los pacientes estudiados, que complica la distinción entre liberación directa de histamina y la mediada vía inmunológica.

Hoy es posible distinguir "a posteriori", en la mayoría de los casos, mediante un test relativamente simple, el origen inmunológico de las reacciones cutáneas a fármacos (106).

No obstante lo comentado, a falta de pruebas directas de la participación de la histamina, viene a sumarse du-

rante este periodo, toda una serie de trabajos en humanos, que cuestionan por diversos motivos dicha participación.

Así, la vasodilatación inducida por la morfina en sujetos normales y pacientes con edema pulmonar, se observó en la mano con la circulación parada (técnica para medir el tono venoso), lo que sugiere su origen neurógeno (376).

La venodilatación observada en el antebrazo con la circulación intacta desapareció si se administraba fentolamina por vía intraarterial (65).

Por tanto, se concluye que los cambios en el tono venomotor inducidos por la morfina son secundarios a su influencia sobre el tono nervioso alfa adrenérgico a nivel central.

Parece confirmar más aún esta hipótesis, el hecho de que la morfina administrada localmente en infusión intraarterial en el hombre, no parece afectar el tono venoso de la extremidad correspondiente (376), ni administrada por vía intravenosa impide la venoconstricción inducida por la noradrenalina intraarterial (376).

Por otra parte, la dilatación arteriolar inducida por la morfina intravenosa, puede ser abolida por la adminis-

tración intraarterial de fentolamina y, en cambio, la morfina no bloquea la vasoconstricción periférica de la noradrenalina en infusión intraarterial (300, 376).

Por todo ello, diversos autores sugirieron que el principal mecanismo por el que la morfina y otros opiáceos producen la dilatación arteriolar y caída de presión sistémica, es consecuencia de sus efectos directos a nivel del SNC con atenuación refleja del tono simpático alfa-adrenérgico periférico (108, 377, 4, 344, 52, 202, 201, 291).

Esta hipótesis concuerda, además, con el dato experimental consistente en los mínimos cambios observados en la tensión arterial tanto en sujetos sanos como cardiópatas, tras la administración intravenosa de una dosis habitual de morfina, si el individuo se encuentra en posición supina, pero en cambio al incorporarse aparece una clara hipotensión ortostática típica (343, 4).

Como contrapartida a lo expuesto, otros estudios realizados en pacientes anestesiados, cuestionan el origen neurogénico de la vasodilatación.

Dosis de morfina con efectos anestésicos (0.5 a 1 mg/kg) administradas directamente por perfusión intraarterial

producen una dilatación arteriolar inmediata aunque transitoria, efecto que por su rapidez hace pensar que ocurra antes de que la morfina haya podido atravesar la barrera hematoencefálica para ejercer su teórica acción central (158, 217).

También pudo comprobarse como la prometacina, antagonista H_1 de la histamina, lograba bloquear en parte dicha dilatación arteriolar, lo que habla en favor de la participación de la histamina inducida por la morfina.

Será, finalmente, con el indicio de la década de los 80 cuando se podrá dilucidar adecuadamente el preciso papel que juega la histamina en los fenómenos cardiovasculares secundarios al empleo de opiáceos en el hombre.

Dos son los factores que contribuyen sobre todo en este sentido:

El desarrollo de antagonistas H_1 y H_2 especificos.

La puesta a punto de métodos de análisis lo suficientemente sensibles como para poder determinar los niveles plasmáticos de histamina (244, 24, 316).

En efecto, los niveles plasmáticos habituales en humanos están alrededor de 1 ng/ml (213, 22, 25, 24, 174, 214),

lo que está muy por debajo de la sensibilidad de los métodos clásicos biológicos y fluorimétricos.

En cambio, los nuevos métodos radioinmunoenzimáticos permiten detectar la histamina en sangre, plasma y otros fluidos corporales con una sensibilidad de 0.1 ng/ml (244, 24, 316).

En este sentido PHILBIN, D.M. y cols. (1981) han demostrado que la administración de 1 mg/kg de morfina en pacientes anestesiados, produce un incremento significativo de los niveles plasmáticos de histamina (más de 4 veces los basales) que además correlaciona bien con el grado de hipotensión y disminución de la resistencia vascular periférica.

Aún más, la administración previa de antagonistas H_1 (difenhidramina) y H_2 (cimetidina) determina una significativamente mayor protección frente a los fenómenos vasculares que si se les administra por separado.

No obstante, la protección alcanzada con la administración simultánea de ambos antagonistas no fué completa, lo que era de esperar ya que la morfina al actuar sobre los mastocitos induce la liberación no sólo de histamina, sino, además, la de toda una serie de mediadores quimicos

con propiedades vasoactivas no antagonizables por antihistamínicos, como queda recogido en otros apartados de la presente tesis doctoral.

En conjunto, el citado trabajo permite sugerir que la histamina juega un importante papel en el estado del tono vasomotor que sigue a la administración de morfina en humanos (275).

La importancia del bloqueo combinado de receptores H_1 y H_2 ha sido confirmada en relación a los efectos vasculares y cutáneos de la histamina, tanto en animales (148, 203, 218) como en enfermos (213) y como en voluntarios sanos (174).

ROSOW, C.E. y cols. (1982) confirman estos mismos resultados en pacientes anestesiados para cirugía cardiaca, en los que detectan, tras 1 mg/kg de morfina intravenosa, un incremento del 750% de media en los niveles de histamina plasmática, con disminución de la presión arterial media (-27 mm Hg) y de las resistencias vasculares periféricas, pudiendo establecerse una alta correlación entre niveles de histamina y efectos vasculares ($r = - 0.81$) (293).

Análogos resultados han sido confirmados por toda una

serie de autores, estudiandolos tanto en enfermos como en voluntarios sanos (245, 107, 100, 99).

No obstante, parece ser que los efectos cutáneos que se observan tras la administración intravenosa de morfina y otros opiáceos en humanos (370, 295, 306), en cuanto a su frecuencia e intensidad, no correlacionan significativamente ni con la dosis del opiáceo ni con los niveles plasmáticos de histamina alcanzados (294, 245).

Es razonable sugerir que suficiente liberación de histamina por morfina intravenosa, puede tener lugar en los tejidos y, por tanto, producir los signos típicos en piel, sin que los niveles plasmáticos de histamina se modifiquen sensiblemente.

En cuanto al mecanismo intimo por el que la morfina induce la liberación de histamina y otros mediadores a partir de los mastocitos y basófilos tanto en animales como en el hombre, parece admitirse de forma generalizada que está relacionado directamente con su naturaleza básica (catiónica) (107, 193, 229, 262, 295, 158).

La matriz del gránulo está constituida por un núcleo proteico al que se unen de forma covalente un grupo heterogeneo de mucopolisacáridos aniónicos (ácidos) llamados

glucosaminglicanos que constituyen la heparina del gránulo. Esta heparina es muy ácida por su contenido en grupos sulfato unidos de forma covalente a determinados átomos de carbono de la macromolécula y también por su contenido en restos carboxilicos. Es precisamente a estos últimos, a los disponibles del núcleo proteico, a los que se une la histamina del gránulo de forma iónica.

En cambio, a los restos sulfato se une fuertemente el enzima catiónico quimasa requiriéndose una fuerza iónica alta para poder disociarla de la heparina tanto in vitro como in vivo (375, 195, 28), mientras que basta con un pH de 4 a 5 en el medio para separar la histamina de la heparina y núcleo proteico (350) de la misma forma que también es fácil solubilizar el resto de mediadores enzimáticos unidos iónicamente a los restos carboxilo de la matriz heparina-proteica (16, 197).

Pero todos estos datos han sido obtenidos a partir de mediciones realizadas sobre contenidos de gránulos de mastocitos estimulados inmunologicamente ó no, y se sabe que el mastocito en reposo contiene principalmente gránulos de contenido cristalino (81, 194, 364, 53, 101), que representan una forma altamente concentrada de los media-

dores primarios y su matriz protectora (53) y que sólo después del estímulo liberador, pero antes de la descarga, sufren una parcial solubilización, pasan a ser de contenido estructuralmente amorfo, se incrementa su presión osmótica y aumentan de tamaño (92, 38, 149, 187, 364), si bien la disociación definitiva de las moléculas del contenido granular parece tener lugar después de la descarga y, al parecer, por intercambio iónico, principalmente con ión Na, muy abundante en el medio extracelular (185, 53, 374, 321).

Por tanto, en los modelos experimentales, lo que se valora es la fuerza iónica de unión entre histamina y la matriz del gránulo ya parcialmente solubilizado por el estímulo liberador inmunológico o no, pero se desconoce cuál será su magnitud en el gránulo en estado cristalino, que presumiblemente será mayor o bien estará mejor protegida de un potencial intercambio iónico, lo que, en definitiva, viene a ser lo mismo.

Pues bien, a la luz de estos conocimientos, resulta difícil de comprender que la morfina por su simple condición de fármaco básico (base orgánica y por tanto débil) sea capaz de desplazar a la histamina de su unión a la matriz del gránulo (193, 107, 262, 229, 266, 295) en mastocitos no estimulados por ningún otro procedimiento y, por tanto

con gránulos de contenido cristalino, es decir, altamente concentrado.

En cambio, estudios realizados in vitro con mastocitos peritoneales de rata, parecen demostrar la participación de mecanismos específicos complejos en la acción estimulante de la degranulación de dichas células, por la morfina y otros opiáceos.

En primer lugar es posible demostrar una clara relación dosis-respuesta entre concentración de morfina y cantidad de histamina liberada, así como tambien para otros opiáceos (89, 138).

La acción inhibidora del calcio sobre la liberación de histamina inducida por morfina in vitro (138) concuerda con el antagonismo general del calcio sobre los efectos centrales y periféricos de la morfina (254, 1), además de ser diferente su influencia sobre la liberación de histamina inducida por otros agentes liberadores (182, 21).

La liberación depende de la presencia de calcio intracelular ya que no hay respuesta a la morfina cuando las células son deplecionadas de calcio por tratamiento previo con el ionóforo A23187 (248, 76, 112, 211).

La liberación de histamina inducida por morfina no se afecta por la presencia de fosfatidilserina (138) que, en cambio, la modifica cuando son otros los agentes liberadores (21, 121, 140, 268).

La acción inhibidora de la antimicina A indica que la liberación de histamina inducida por morfina requiere energia metabólica, sugiriendo por tanto un mecanismo selectivo (89, 82).

La acción inhibitoria del antagonista opiáceo naloxona sobre la liberación de histamina inducida por morfina, parece ser independiente del tiempo de incubación (138, 168), lo cual concuerda con las observaciones publicadas sobre linfocitos (372, 227, 231).

Las interacciones descritas entre naloxona, codeina, morfina y meperidina (138) sugieren que estos cuatro fármacos actuan sobre receptores comunes o estrechamente relacionados en los mastocitos. Esta afirmación parece confirmarse por la acción inhibitoria similar de los tres últimos sobre la liberación inducida por el compuesto 48/80 (168, 255).

Una acción inhibitoria de la morfina sobre el efecto del compuesto 48/80 fué tambien observada en experimentos

In vivo con perros y ratas (3, 184, 17), así como en experimentos con órgano aislado (178).

La liberación de histamina inducida por morfina puede ser inhibida por preincubación con concentraciones bajas del fármaco (138).

Esto parece similar a la desensibilización observada después de la exposición de los mastocitos al antígeno bajo condiciones que impiden la liberación máxima de histamina (79, 139).

Una posible explicación es que la interacción de la morfina con sus receptores sobre el mastocito pueda ser de caracteristicas similares a la interacción antigeno-IgE. Aún más, estudios epidemiológicos han sugerido que una historia de atopía puede predisponer a reacciones adversas mediadas por histamina durante la anestesia (245).

Parece evidente, pues, que en la liberación de mediadores por los mastocitos, inducida por morfina, intervienen complejos mecanismos que posiblemente incluyen sitios receptores en la célula, que van mucho más allá de la simplista explicación basada en un mecanismo de desplazamiento de la histamina en los gránulos intracelulares por la naturaleza básica de la morfina y sustancias afines.

Buprenorfina

Derivado semisintético de la morfina con actividad antagonista-agonista opiácea que parece presentar un potencial de abuso probablemente menor que el de la morfina (165).

Sin embargo, sus efectos cardiovasculares aunque no ampliamente analizados en la actualidad, se consideran en principio similares a los de la morfina (312, 47, 230, 147, 146, 313), a pesar de que a dosis equianalgésicas su efecto hipotensor, por ejemplo, es mínimo comparado con el de la morfina (52, 164).

No hemos encontrado trabajos que relacionen los efectos vasculares de la buprenorfina con la liberación de mediadores por los mastocitos, por lo que consideramos altamente deseable comprobar si este analgésico se comporta en nuestro modelo de estudio como liberador de histamina y, en todo caso, analizar sus efectos comparativamente con los de la morfina.

Naloxona

La naloxona es un antagonista opiáceo usado para revertir los efectos depresores sobre la respiración y el SNC, de la morfina y otros narcóticos (164, 144, 145, 155, 262).

Sin embargo tambien se ha mostrado capaz de revertir la hipotensión y vasodilatación periférica tras morfina, tanto en animales como en el hombre (154, 64).

Experiencias realizadas con mastocitos peritoneales aislados, de rata, demuestran cómo la naloxona inhibe la liberación de histamina inducida por morfina, lo que sugiere que ambos fármacos actúan sobre un sitio receptor común ó estrechamente relacionado en el mastocito (138) lo que concuerda con observaciones realizadas utilizando linfocitos (372).

Astemizol

El astemizol es un antagonista de los receptores H_1 de la histamina con una acción de larga duración que permite una administración única al dia (284).

En voluntarios sanos, dosis únicas de astemizol inhiben de forma significativa las pápulas y eritemas en respuesta a histamina administrada intradérmicamente (20).

En pacientes asmáticos, el astemizol en dosis múltiples aumenta el umbral de respuesta bronquial a la histamina inhalada (222).

Resultados de estudios en animales y en el hombre, sugieren un grado de actividad similar en reacciones mediadas por alergenos (17, 356, 354, 156, 48).

El astemizol sólo en determinadas y excepcionales condiciones de experimentación, tiene alguna influencia sobre la liberación o almacenaje de mediadores en los mastocitos (74, 19).

Oxatomida

La oxatomida es un antagonista de los receptores H_1 de la histamina capaz, además, de inhibir la degranulación de los mastocitos (285).

En varios estudios, la oxatomida ha demostrado un efecto inhibitorio sobre la liberación de histamina inducida tanto quimicamente (compuesto 48/80, ionóforo A-23187, concanavalina A, dextrano, etc.) como por antigenos, en modelos in vitro, de mastocitos (74, 30, 349, 252).

Asimismo, diversos estudios demuestran que la oxatomida es capaz de inhibir la liberación de histamina inducida por antigeno a partir de leucocitos basófilos humanos (30, 281, 61).

En tejido pulmonar humano, la oxatomida inhibe la liberación de histamina inducida por antigeno y anti-IgE (60, 30, 61, 252, 281).

Estudios de microscopía electrónica de mastocitos han revelado que la oxatomida afecta a los cambios morfológicos de estas células asociados con la anafilaxis y frente a animales control (36, 355).

La dosis oral de oxatomida capaz de inhibir el 50% (DI_{50}) de la reacción cutánea debida a la inyección intradérmica de histamina (50 mg) fué de 9.4 mg/kg en ratas. Los resultados obtenidos con otros antagonistas H_1 fueron de 28.3 mg/kg para cinarizina y de 1.2 mg/kg para ketotifeno (17).

El edema cutáneo inducido por histamina en cobayas fué inhibido por oxatomida de manera dosis-dependiente (18).

La exposición con ovoalbúmina de fragmentos pulmonares de cobaya previamente sensibilizados, evoca in vitro la liberación de mediadores, los cuales producen una respuesta contractil bifásica en ileo aislado de cobaya. El aumento rápido de tensión inicial puede ser abolido por pretratamiento con atropina y un antagonista H_1. La segunda fase de la contracción, presumiblemente mediada por SRS-A, es resistente a ambos fármacos. Esta última

fase puede ser antagonizada de manera dosis-dependiente por oxatomida (90).

El modelo de anafilaxia cutánea pasiva (PCA) en ratas, ha sido usado ampliamente en la evaluación de compuestos "cromoglicato-like" y puede emplearse como modelo específico de alergia inducida por IgE (60).

La intensidad de respuesta en el PCA en ratas, puede ser inhibido en un 50% mediante pretratamiento con oxatomida por via oral (253, 17, 18).

En experiencias de shock anafiláctico, el animal es sensibilizado por inyección intravenosa del antigeno (119).

En cobayas sensibilizados pasivamente, la oxatomida administrada oralmente, protege contra los síntomas agudos de la anafilaxia y previene los típicos cambios de los mastocitos peribronquiales, vistos en los animales de control (36).

Ha sido publicado que la oxatomida tiene una duración de acción relativamente larga en el modelo de anafilaxia del cobaya (18).

Además, en la reacción mortal de anafilaxia inducida por

el compuesto 48/80 en ratas, la DE_{50} de oxatomida oral que reduce la mortalidad es aproximadamente de 5 mg/kg cuando se administra 2 horas antes de la prueba (17).

En resúmen, la oxatomida tiene un efecto antialérgico demostrado, pero nuestras lagunas en el conocimiento de las reacciones alérgicas, dificultan la determinación del mecanismo de acción antialérgico de este fármaco.

La no existencia de correlación entre la potencia antagonista a nivel de receptor H_1 y la potencia de inhibición de la liberación de histamina a partir de tejidos pulmonar humano (61) sugiere que la actividad de este fármaco sobre los mastocitos no está mediada via receptores H_1 de la histamina.

Al mismo tiempo existen suficientes datos que sugieren que la oxatomida inhibe la degranulación de los mastocitos, interfiriendo con la entrada de calcio a la célula (74, 349), posiblemente debido a una previa absorción de la molécula del fármaco en la membrana celular, por su naturaleza de base poco ionizada (lipofílica) (61, 74).

Diltiazem

Es un fármaco perteneciente al grupo de los llamados an-

tagonistas del calcio ó bloqueantes de los canales lentos del calcio (380, 41, 204).

El mecanismo exacto por el que los antagonistas del calcio actúan sobre estos canales, es desconocido, pero se ha sugerido que podrían bloquear su puerta de entrada en el exterior de la célula, o competir con el calcio en dicha entrada, o de formar los canales interfiriendo el paso del ión ó interferir con la liberación del calcio activado en la cara interna de la membrana celular (62, 163, 346, 351, 353).

Se han estudiado sus efectos fundamentalmente a nivel cardiovascular (150, 247, 345), si bien al interferir con un proceso tan básico del funcionamiento celular como es el movimiento de calcio a través de las membranas, se creyó en su posible participación en el funcionalismo de otros tipos celulares como los mastocitos (93), para los cuales ya se ha descrito anteriormente la importancia del influjo de iones calcio a la célula para iniciar el proceso de liberación de mediadores (115, 56, 15, 114, 340, 113, 73, 82, 109, 111).

Este conocimiento ha sido la base de su empleo en enfermedades con amplia participación mastocitaria como el asma (234, 55, 264, 359, 228).

JUSTIFICACION

Debido al mejor conocimiento de la biología de los mastocitos a través de la investigación inmunológica fundamental, y secundariamente de su papel en los fenómenos de hipersensibilidad, es como se ha conseguido una mejor comprensión de los mecanismos de las reacciones alérgicas y esto ha permitido, a su vez, desarrollar nuevos fármacos antialérgicos mediante enfoques racionales basados precisamente en la información derivada de dicha investigación básica.

Por su parte, los estudios realizados con los nuevos fármacos han suministrado claves para descifrar los problemas, aún oscuros, de las reacciones inmunes y alérgicas.

Un ejemplo, particularmente adecuado, de esta interdependencia puede encontrarse entre el estudio básico de los mecanismos bioquímicos de control de la liberación de mediadores por los mastocitos y las investigaciones realizadas con fármacos potencialmente capaces de inhibir tal liberación, a los que se ha dado en llamar "estabilizadores de los mastocitos", lo que, a su vez, ha permitido aclarar determinados aspectos de dichos mecanismos de control, lo que abre, por tanto, nuevas perspectivas en la regulación farmacológica de las reacciones alérgicas dependientes de mastocitos.

Por otra parte, aunque son numerosos los modelos farmacológicos de estudio de mastocitos propuestos hasta la fecha, la mayoria están basados en experimentación animal, siendo muy escasos los trabajos llevados a cabo en humanos.

Por lo tanto, utilizando la morfina y buprenorfina como potenciales liberadores de mediadores a partir de mastocitos de la piel en humanos, y el astemizol, oxatomida, diltiazem y naloxona como posibles antagonistas de dicha acción, nos propusimos aclarar las siguientes preguntas:

1. ¿Es posible demostrar una relación dosis-respuesta para los efectos de la morfina y buprenorfina inyectadas intradérmicamente en humanos? y, en tal caso ¿cuales son sus potencias relativas?.

2. ¿Participa en el mecanismo liberador de mediadores por los mastocitos de la piel en el hombre por ambos narcóticos, algún tipo de receptor opiáceo?

3. ¿Es posible demostrar para la oxatomida una acción inhibidora de los efectos de la morfina cualitativamente diferente a la esperada con el empleo de astemizol y que vaya más allá de un simple antagonismo de tipo H_1?.

4. ¿Es posible demostrar para el diltiazem una acción inhibidora de los efectos de la morfina en base a su acción bloqueante de los canales lentos del calcio?

5. ¿Es útil el modelo farmacológico experimental en humanos propuesto, para aportar nuevos conocimientos del funcionalismo de los mastocitos, y al mismo tiempo para evaluar nuevos fármacos potencialmente antialérgicos?.

MATERIAL Y METODOS

A). Efectos farmacológicos de la inyección intradérmica de morfina en el hombre: Curva dosis-respuesta a la morfina.

Participaron 6 voluntarios sanos, varones, de edad comprendida entre 18 y 35 años, no fumadores, sin historia anterior de patologia alérgica de cualquier tipo o de hipersensibilidad a medicamentos y en ausencia de todo tratamiento en el momento de la prueba, siendo además analizada de forma individual toda pcsible ingesta de fármacos en el mes anterior a la experiencia. Asi mismo dieron su consentimiento por escrito tras haber sido informados de las caracteristicas y riesgos del estudio, de acuerdo con la legislación vigente.

La experiencia fué realizada en una habitación con temperatura controlada (20ºC $\pm$ 1ºC) en la cual los voluntarios ya se encontraban 1 hora antes del comienzo de la misma.

Con objeto de obtener la curva dosis-respuesta a la morfina, cada sujeto recibió inyecciones intradérmicas sobre la cara flexora del antebrazo, consistentes en 0.1 ml de suero fisiológico conteniendo 0.05, 0.1, 1, 5, 10 y 50 mcg de cloruro mórfico, siendo todas las soluciones preparadas inmediatamente antes de la prueba siguiendo además en todo momento las adecuadas normas de asepsia y antisepsia tanto en su elaboración como en su empleo

posterior.

Como control negativo de los efectos de la morfina se empleó el mismc suero fisiológico utilizado como vehiculo de las soluciones anteriormente referidas.

Se utilizaron jeringuillas comerciales tipo insulina de un solo uso, de envase individual, esteril y cerrado herméticamente. Cada lugar de inyección estuvo separado de los adyacentes por un mínimo de 3 cm en todos los casos.

Transcurridos 15 minutos de cada inyección, se midieron las áreas de las pápulas, para lo cual se emplearon láminas de plástico transparente, sobre las cuales se dibujaron las áreas correspondientes, siendo posteriormente fotocopiadas en un mismo tipo de papel estandar.

A continuación fueron recortadas las áreas individualmente y sometidas a pesaje en microbalanza METTLER ME-30 con precisión de milésima de milígramo. Asi mismo fué fotocopiada en el mismo tipo de papel una hoja milimetrada "EXACTOR" nº 302 que convenientemente recortada y pesada permitió establecer un patrón de relación peso-superficie, así como calcular los mm^2 correspondientes al peso de cada recorte de pápula (GRAFICA 1).

De los valores obtenidos se restaron los correspondientes de suero fisiológico solo.

Como medidas complementarias para asegurar en todo momento la objetividad del experimentador en la ejecución y obtención de los resultados, se emplearon las siguientes:

- El conjunto de viales conteniendo las distintas soluciones de morfina y del control, fueron totalmente indistinguibles entre si, salvo por su codificación de 1 a 7 indicadora del orden en que habian de ser utilizados por el experimentador.

- Dicho orden fué establecido al azar previamente a la experiencia y diferente para cada voluntario. Personal auxiliar fué el encargado de la reordenación de los viales antes de su uso en cada voluntario.

- La cuantificación de los resultados sobre la piel del antebrazo fué realizada a lo largo de toda la experiencia por un mismo individuo, previamente entrenado pero por lo demás ajeno por completo a la naturaleza del estudio.

Análisis de la relación dosis-respuesta a la morfina:

Se llevó a cabo asumiendo que existe una relación entre la concentración del fármaco administrado (dosis) y el efecto observado. Matematicamente

$$E = \frac{Emax \cdot A}{A + K}$$

donde E representa el efecto, A es la concentración o dosis administrada y K es la constante aparente de disociación del complejo fármaco-receptor.

Gráficamente esta ecuación da lugar a una hiperbola, pero si substituimos A por log A obtendriamos una curva sigmoide.

En forma similar, la transformación doble reciproca (1/E vs 1/A) produce una linea recta ya que una vez invertidos ambos términos de la ecuación anterior, ésta toma la siguiente forma:

$$\frac{1}{E} = \frac{K}{Emax} \cdot \frac{1}{A} + \frac{1}{Emax}$$

Aún otra transformación de la primera ecuación puede conducir igualmente a una linea recta cuando en abscisas se representa E/A. Matemáticamente

$$Emax = \frac{E\ (A + K)}{A}$$

o lo que es igual

$$E = Emax - K \cdot \frac{E}{A}$$

donde la ordenada en el origen corresponde al Emax, mientras que la pendiente se corresponde directamente con K la cual es numéricamente igual a la DE_{50} (339).

Una ventaja más de este último tipo de ajuste matemático es que se consigue un mejor reparto de los puntos a todo lo largo de la gráfica (80).

B). Influencia de la naloxona sobre los efectos de la morfina intradérmica:

Participaron dos grupos de 6 voluntarios asignados a cada grupo de forma randomizada, sanos, varones, de edad comprendida entre 18 y 35 años, no fumadores, que no estaban recibiendo ningún tipo de medicación, siendo analizada de forma individual toda posible ingesta de fármacos en el mes anterior a la prueba y sin historia de alergia o hipersensibilidad a cualquier medicamento.

Se utilizaron soluciones estériles de cloruro mórfico en suero fisiológico a partir de una solución comercial de 10 mg del producto en 1 ml. Se emplearon, igualmente, ampollas comerciales de naloxona conteniendo 0.4 mg/ml

y de histamina conteniendo 1 mg/ml.

La experiencia se realizó en dos dias consecutivos, un día para cada uno de los dos grupos de voluntarios, comenzando a las 9:00 a.m. en ayunas y en recinto con temperatura y humedad comparables.

Las distintas soluciones a emplear cada uno de los dos dias, fueron preparadas y envasadas en viales ad hoc durante la hora previa al inicio de la experiencia, siguiendo en todo momento las normas de asepsia y antisepsia habitualmente en uso para estos casos en los Servicios de Farmacia Hospitalaria.

Para su administración por vía intradérmica a los voluntarios, se utilizaron jeringuillas comerciales tipo insulina, de 1 ml, para un solo uso y en envase individual. Como superficie anatómica receptora de los fármacos inyectados, se utilizaron las de las caras flexoras de ambos antebrazos, previa aplicación antiséptica de alcohol etílico de 96º y su posterior evaporación.

Con objeto de obtener las correspondientes curvas dosis respuesta a la morfina se seleccionaron 6 diferentes dosis del fármaco: 0.05, 0.1, 1, 5, 10 y 50 mcg.

Por otra parte y con objeto de detectar cualquier posible acción directa de la naloxona sobre los efectos de la histamina liberada por morfina, se emplearon como controles 2 dosis de histamina (1 y 4 mcg) administradas tambien en 0.1 ml de suero fisiológico.

Para cada voluntario y siempre con una duración inferior a los 5 minutos, fué realizada la primera tanda de inyecciones intradérmicas, procediéndose a la cuantificación de las pápulas a los 15 minutos de cada inyección y tras la última medición fué administrado 1 ml de solución esteril conteniendo 0.4 mg de naloxona por vía subcutánea.

Transcurrida media hora, momento de plena actividad como antagonista opiáceo (44, 164, 190, 262), se procedió a la segunda tanda de inyecciones intradérmicas, asimismo con menos de 5 minutos entre la primera y la última inyección, en el antebrazo contralateral de cada voluntario y nuevamente fueron cuantificados los efectos a los 15 minutos de cada inyección. El método de medida del área de las pápulas fué el mismo empleado en el apartado anterior al que me remito.

No se utilizó inyección placebo frente a la naloxona por considerar:

1. Que el área de una pápula es improbable que pueda ser autofluenciada en condiciones normales por un sujeto voluntario, por el hecho de conocer cuando se le administra el fármaco teóricamente antagonista de tal efecto.

2. Que en el caso de utilizar placebo, las superficies de ambos antebrazos no serían suficientes para admitir las 4 tandas de 9 inyecciones (6 de fármaco, 2 de histamina y 1 de suero fisiológico) que en tal caso se necesitarían, teniendo en cuenta que son obligados un mínimo de 3 cm de radio alrededor de cada inyección.

   El cambio a otra zona corporal (espalda, etc.) complicaria injustificadamente el método expuesto, propuesto entre otras cosas, por su sencillez de ejecución y mínima agresividad y recelo para el sujeto.

3. Que sin placebo, todos los datos a obtener de un mismo voluntario, lo serían en una sola hora, habiendo por tanto una mínima influencia de factores externos de variabilidad sobre los resultados observados.

   Si, por el contrario, se introduce placebo, tendríamos datos de un mismo voluntario, observados al menos con un intervalo de 24 horas.

4. Que fueron tomadas medidas complementarias para asegurar en todo momento la objetividad del experimentador.

Los viales conteniendo las diferentes soluciones estériles de morfina, de histamina y de suero fisiológico, eran totalmente indistinguibles entre si y sin ninguna señal externa, salvo la codificación de 1 a 9 indicando el orden en que habían de ser utilizados por el experimentador para extraer y administar un mismo volumen en todos los casos, de 0.1 ml de la solución estéril contenida en su interior.

Dicho orden fué establecido al azar, previamente a la experiencia para cada una de las 2 tandas de inyecciones que recibirian los 12 voluntarios.

Personal auxiliar se encargó durante la experiencia de la reordenación de los viales como medida previa a todas las series de inyecciones, manteniendo, sin embargo, externamente el código indicado de 1 a 9.

Finalmente, la cuantificación del área de las pápulas sobre la piel del antebrazo, fué realizada a lo largo

de toda la experiencia, por un mismo individuo previamente entranado pero, por lo demás, ajeno por completo a la naturaleza del estudio.

El tratamiento matemático completo de los resultados, así como las pruebas de significación estadística y la totalidad del material gráfico elaborado, han sido realizados en microordenador CBM serie 4.000 conectado a través de bus paralelo IEEE-488 con una impresora de matriz de puntos CBM-3022, utilizando programas en M-BASIC en todos los casos, especialmente modificados y ampliados por el autor, para la realización en este trabajo de los métodos de análisis de correlación y regresión lineal, así como para los test de significación estadística de Student y Wilcoxon, ambos para el contraste de medias en muestras apareadas y de variables normales o de variables cualesquiera, respectivamente.

C). Influencia de los antihistamínicos convencionales y de los de acción estabilizadora de los mastocitos sobre los efectos de la morfina intradérmica:

Participaron 2 grupos de 6 individuos asignados a cada grupo, de forma randomizada, voluntarios, sanos, varones, de edad comprendida entre 22 y 37 años, no fumadores,

sin historia anterior de patologia alérgica de cualquier tipo o de hipersensibilidad a medicamentos y en ausencia de todo tratamiento en el momento de la prueba, siendo, además, analizada de forma individual toda posible ingesta de fármacos en el mes anterior a la experiencia.

Fué asimismo obtenido su consentimiento por escrito, previa información de acuerdo con la legislación vigente.

Fármacos a estudiar y su administración:

Los fármacos objeto de investigación en este tercer apartado fueron astemizol en comprimidos de 10 mg y oxatomida en comprimidos de 30 mg.

Cada grupo de 6 voluntarios recibió uno u otro de estos fármacos y, en cada caso, por vía oral con los comprimidos incluídos en sellos de oblea e ingeridos con 100 ml de agua en ayunas y comenzando siempre a las 9.00 a.m. con el primer voluntario de cada grupo y siguiendo el mismo proceso cada 5 minutos con el resto de los voluntarios pertenecientes a este grupo.

Como placebo fué empleada lactosa incluída en el mismo tipo de sellos antes mencionados y administrada siguiendo idéntico protocolo que para los fármacos.

Consideraciones de tipo cinético (resistencia al washout" por parte de ambos fármacos (90, 284, 356, 19, 285) y nuestra experiencia previa de la variabilidad que las diferencias en el tiempo pueden introducir en los resultados, nos hicieron optar por un tipo de estudio alternativo al doble ciego convencional:

- Cada grupo de voluntarios fué sometido a la experiencia completa en 2 dias consecutivos, administrándoseles el primer día el placebo y el segundo día el fármaco correspondiente.

- En todo caso los voluntarios carecieron de información en tal sentido.

- El experimentador principal no tuvo conocimiento del fármaco asignado aleatoriamente a cada grupo.

- Para cada voluntario los resultados placebo-fármaco, fueron obtenidos siempre en recinto con temperatura y humedad comparables y con un intervalo de tan solo 2 horas.

- En un doble ciego convencional, este intervalo habría tenido que ser de un mínimo de 7 a 14 dias.

- Otras medidas complementarias de objetividad fueron asimismo adoptadas y serán comentadas más adelante.

Ambos fármacos fueron administrados en dosis única y de acuerdo con los datos cinéticos y de efectividad clínica disponibles, siendo las dosis empleadas 30 mg de astemizol y 60 mg de oxatomida (48, 156, 284, 20, 222, 354, 75, 91, 285).

Sus respectivos efectos fueron cuantificados a los 45 minutos de su administración para el astemizol y a los 120 minutos para la oxatomida.

Agonistas y su administración:

Se utilizaron soluciones estériles de cloruro mórfico en suero fisiológico a partir de una solución comercial de 10 mg del producto en 1 ml, con las siguientes concentraciones: 50, 10, 5, 1, 0.1, y 0.05 mcg/0.1 ml.

Asimismo, soluciones estériles de diclorhidrato de histamina en suero fisiológico, a partir de una solución comercial de 1 mg del producto en 1 ml, con las siguientes concentraciones: 2, 1, y 0.5 mcg/0.1 ml (383).

Todas las soluciones fueron preparadas en el mismo dia de su utilización, siguiendo, además, en todo momento,

las adecuadas normas de asepsia y antisepsia tanto en su elaboración como en su empleo posterior.

Como control negativo de los efectos de la morfina e histamina, se empleó el mismo suero fisiológico utilizado como vehículo en las soluciones de los fármacos agonistas.

Una vez transcurrido el tiempo de espera, anteriormente comentado, tras la administración oral del fármaco antagonista correspondiente o su placebo, las distintas soluciones de ambos fármacos agonistas y del control, fueron inyectadas por vía intradérmica sobre las caras flexoras de ambos antebrazos previa aplicación antiséptica y evaporación, de etanol de 96º.

Se utilizaron jeringuillas comerciales tipo insulina de un solo uso y de envase individual. Cada lugar de inyección estuvo separado de los adyacentes por un mínimo de 3 cm en todos los casos.

El volumen de solución inyectado vía intradérmica fué siempre de 0.1 ml.

Como medidas complementarias para asegurar en todo momento la objetividad del experimentador en la ejecución y obtención de los resultados, se emplearon, además de las

anteriormente comentadas, las siguientes:

- El conjunto de viales conteniendo las distintas soluciones de los agonistas y del control, fueron talmente indistinguibles entre si, salvo por su codificación de 1 a 10, indicadora del órden en que habían de ser utilizados por el experimentador.

- Dicho orden fué establecido al azar, previamente a la experiencia y diferente para cada voluntario y para cada una de las 2 tandas de inyecciones que aquél recibió. Personal auxiliar fué el encargado de la reordenación de los viales antes de su uso en cada voluntario.

- La cuantificación de los resultados sobre la piel del antebrazo fué realizada a lo largo de toda la experiencia por un mismo individuo, previamente entrenado pero, por lo demás, ajeno por completo a la naturaleza del estudio.

La experiencia completa en cada voluntario incluyó 2 tandas de inyecciones (placebo-fármaco), utilizando uno de los antebrazos cada vez.

En todos los casos las distintas inyecciones fueron administradas a intervalos regulares de modo que la serie

correspondiente fuese acabada siempre en 5 minutos.

Cuantificación de las respuestas cutáneas:

Transcurridos 15 minutos de cada inyección, se procedió a la medición del área de las pápulas correspondients, siguiendo el método ya descrito en los apartados iniciales a los que me remito. Dicha área fué expresada en mm^2.

Cálculo de la DE_{50} y Emax de la histamina y morfina:

Dicho cálculo, tanto frente al placebo como frente a ambos antagonistas, fué realizado en todos los casos por el método de regresión aplicado a las parejas de datos x (área/dosis)- y (área) según quedó explicado en el apartado A), al que me remito.

Como en aquella ocasión, para la morfina el cálculo fué realizado de forma independiente para el rango inferior de dosis (1, 0.1, 0.05 mcg/0.1 ml) y para el superior (50, 10 y 5 mcg/0.1 ml).

Análisis estadístico:

Fué empleado el test de Student para muestras apareadas

para establecer la significación estadística de las diferencias observadas entre las medias aritméticas de las áreas de las pápulas inducidas por ambos agonistas en presencia del placebo frente a las inducidas en presencia del correspondiente fármaco antagonista.

El mismo test se empleó, con idéntico fin, para las diferencias observadas en las DE_{50} y Emax estimados frente al placebo y el correspondiente antagonista.

El test de Student para muestras independientes, nos permitió evaluar la significación estadística de las diferencias observadas entre las DE_{50} y Emax de ambos agonistas entre si, obtenidas en presencia de astemizol, frente a las obtenidas en presencia de oxatomida. Igual para ambas series con placebo.

D). Influencia de los bloqueantes de los canales lentos del calcio sobre los efectos de la morfina intradérmica:

1. Estudio con dosis únicas de diltiazem:

Participaron 6 voluntarios sanos con idénticos criterios de inclusión y exclusión ya comentados con anterioridad.

El estudio consistió en un doble ciego randomizado que nos permitió comparar los efectos de la dosis única de 240 mg de diltiazem y del placebo, sobre las pápulas inducidas sobre la piel de la cara flexora del antebrazo por las inyecciones intradérmicas de 0.1 ml de suero fisiológico, solo y conteniendo 0.05, 0.1, 1, 5, 10 y 50 mcg de cloruro morfico, midiendo las áreas correspondientes a los 10 y 20 minutos de cada inyección.

El diltiazem se administró por via oral en forma de tabletas incluidas en sellos rellenados con lactosa, con 100 ml de agua, con estomago vacio, a las 9:00 a.m.. El placebo fué lactosa incluida en el mismo tipo de sellos.

Transcurridas 3 horas de la administración de los sellos, momento en el que los niveles de diltiazem se situan en su pico máximo en plasma (243, 380, 179), se procedió a la serie de inyecciones intradérmicas.

Entre la administración de la dosis única de diltiazem y del placebo transcurrió un mínimo de 72 horas, considerando que la vida media de aquel en el hombre oscila alrededor de 6 horas (243, 380, 179).

2. Estudio con dosis múltiples de diltiazem:

Participaron 6 voluntarios sanos. El estudio consistió en un "cross over" doble ciego en el que cada voluntario recibió el placebo o 180 mg de diltiazem al día, repartidos en 3 tomas, durante 7 dias y tras una semana de intervalo se repitió el proceso durante siete dias.

Al final de cada semana de administración los sujetos fueron sometidos a la experiencia completa con morfina, con la variante de que la cuantificación de los resultados fué realizada únicamente a los 15 minutos de cada inyección.

E). Comparación de los efectos de la morfina y buprenorfina por via intradérmica

Participaron 2 grupos de 6 voluntarios asignados a cada grupo de forma randomizada, sanos, varones, de edad comprendida entre 18 y 35 años, no fumadores, que no estaban recibiendo ningun tipo de medicación, siendo analizada de forma individual toda posible ingesta de fármacos en el mes anterior a la prueba y sin historia de alergia e hipersensibilidad a cualquier medicamento.

Se utilizaron soluciones estériles de clorhidrato de buprenorfina, también en suero fisiológico, a partir de una solución comercial (Temgesic) de 0.3 mg del producto en 1 ml. Se emplearon, igualmente, ampollas comerciales de naloxona, conteniendo 0.4 mg/ml y de histamina conteniendo 1 mg/ml.

La experiencia se realizó en 2 dias consecutivos, un día para cada uno de los dos grupos de voluntarios, comenzando a las 9.00 a.m. en ayunas y en recinto con temperatura y humedad comparables.

Las distintas soluciones a emplear cada uno de los dos días, fueron preparadas y envasadas en viales ad hoc durante la hora previa al inicio de la experiencia, siguiendo en todo momento las normas de asepsia y antisepsia habitualmente en uso para estos casos, en los servicios de Farmacia Hospitalaria.

Para su administración por vía intradérmica a los voluntarios, se utilizaron jeringuillas comerciales tipo insulina, de 1 ml para un solo uso y en envase individual.

Como superficie anatómica receptora de los fármacos inyectados, se utilizaron las de las caras flexoras de ambos antebrazos, previa aplicación antiséptica de alcohol

etílico de 96º y su posterior evaporación.

Como observación preliminar obligada de los efectos de la buprenorfina al ser administrada por vía intradérmica, participaron 2 voluntarios sanos, varones, de 20 y 25 años de edad, siguiendo idénticos criterios de inclusión a los ya citados con anterioridad.

A priori teníamos 2 posibilidades: o no liberaba histamina cualquiera que fuera la dosis empleada dentro del rango disponible (la dosis maxima posible era de 30 mcg/0.1 ml de acuerdo con la concentración de 0.3 mg/ml de la ampolla comercial de Tengesic) ó bien liberaba histamina a partir de una dosis más o menos elevada dentro de dicho rango.

Fuera cual fuera el resultado y en base a nuestro previo conocimiento del comportamiento de la morfina que fué el patrón de referencia, parece obvio que nuestra primera aproximación consistiera en conseguir un rango de dosis de buprenorfina comparable al conocido de morfina y precisamente en términos del caracter común que motiva el empleo de ambos fármacos en clínica, su actividad analgésica.

Puesto que disponíamos de ampollas comerciales conteniendo dosis equianalgésicas (164) de ambos fármacos (10 mg-0.3 mg) y considerando que para la morfina la dosis inicial de 10 mg tras diluciones sucesivas dió lugar a la serie ya conocida con actividad liberadora de histamina, era evidente que idénticas diluciones de la ampolla de buprenorfina conteniendo una dosis equiefectiva conduciría a una serie de dosis también equiefectivas a las de morfina y cuya capacidad liberadora de histamina estaba por estudiar, siendo éste y no otro el rango de dosis de mayor interés en orden a obtener conclusiones que, aunque sea de forma indirecta, puedan extrapolarse a la práctica clinica.

Las 6 dosis equiefectivas de buprenorfina administradas intradérmicamente en 0.1 ml de suero fisiológico, fueron 1.5, 3, 30, 150, 300 y 1.500 ng y como control negativo se administró asimismo 0.1 ml de suero fisiológico.

Unicamente la dosis de 1.500 ng produjo en ambos voluntarios, pápulas cuyas superficies fueron mayores que las correspondientes de suero fisiológico de control.

No obstante, y por la excepción mencionada, decidimos averiguar si una nueva serie de dosis superiores de buprenorfina liberarían histamina de forma que fuese posible establecer una relación dosis-respuesta, como en el

caso de la morfina.

Partiendo de la maxima concentración disponible del preparado comercial de buprenorfina, la nueva serie fué: 1.25, 2.5, 5, 10, 20 y 30 mcg en 0.1 ml de suero fisiológico.

Por otra parte y con objeto de detectar cualquier posible acción directa de la naloxona sobre los efectos de la histamina liberada por buprenorfina, se emplearon como controles 2 dosis de histamina (1 y 4 mcg) administradas también en 0.1 ml de suero fisiológico. Como control negativo se administró en todos los casos 0.1 ml de suero fisiológico solo.

Para cada voluntario y siempre con una duración inferior a los 5 minutos, fué realizada la primera tanda de inyecciones intradérmicas, procediéndose a la cuantificación de las pápulas a los 15 minutos de cada inyección y tras la última medición fué administrado 1 ml de solución estéril conteniendo 0.4 mg de naloxona por vía subcutánea.

Transcurrida media hora, momento de plena actividad como antagonista opiáceo (44, 164, 190, 262), se procedió a la segunda tanda de inyecciones intradérmicas, asimismo con menos de 5 minutos entre la primera y última inyec-

ción, en el antebrazo contralateral de cada voluntario y nuevamente fueron cuantificados los efectos a los 15 minutos de cada inyección. El método de medida del área de las pápulas fué el mismo empleado en los apartados anteriores a los que me remito.

De igual forma, el tratamiento matemático de los resultados fué el mismo que el descrito anteriormente para la morfina.

RESULTADOS

A). Efectos farmacológicos de la inyección intradérmica de morfina en el hombre: Curva dosis-respuesta.

1. Resultados experimentales: La inyección intradérmica de morfina en el antebrazo de sujetos sanos reproduce la llamada "triple respuesta de Lewis" de manera dosis relacionada.

Las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de morfina en cada voluntario aparecen reflejadas en la TABLA 1 (columnas CTRL).

Tanto para la media aritmética de los resultados como para cada voluntario por separado se cumple que a mayor dosis de morfina mayor es el área de la pápula obtenida.

2. Análisis de la relación dosis-respuesta a la morfina:

El análisis de correlación, previa transformación semilogaritmica de los resultados, pone de manifiesto una aparentemente buena relación lineal, expresada en términos de coeficiente de correlación ($r = 0.994$), entre las superficies de las pápulas y el logaritmo de las dosis de morfina, siendo la existencia de dicha relación lineal, estadísticamente significativa (P menor 0.001).

La cuantificación se consigue a través de un análisis de regresión que nos permite ajustar una recta por el método de los mínimos cuadrados a los datos experimentales transformados según el modelo semilogaritmico y previo cálculo de su ecuación matemática, cuya pendiente sería la expresión cuantitativa de dicha relación y su significación estadistica estaria asegurada al ser su cálculo aritméticamente idéntico al seguido para la prueba de significación del análisis de correlación.

Todos los datos numericos citados así como su representación gráfica quedan recogidos en la GRAFICA 2 para la media aritmética de los resultados.

Con objeto de estudiar la relación dosis-respuesta a través de la estimación optimizada de la DE_{50} y el Emax teóricos, procedimos al análisis de correlación y regresión de los datos experimentales transformados, según el modelo doble recíproco.

Como puede observarse en la GRAFICA 3, la distribución de puntos obtenida presenta un coeficiente de correlación ($r = 0.781$), estadísticamente no significativo, debido a la no linearidad de dichos puntos experimentales.

Estos hechos parecen sugerir la existencia de 2 tipos

de relaciones lineales dentro del rango de dosis de morfina empleado. Por lo tanto, con objeto de aclarar este punto procedimos al análisis de correlación y regresión de los datos experimentales transformados según el modelo x(área/dosis)- y (área) lo que condujo a interesantes resultados, recogidos en la GRAFICA 4 para la media aritmética de los voluntarios.

En dicha gráfica, matemáticamente llama la atención el coeficiente de correlación lineal (r = -.87) (n.s.), pareciendo confirmar tal hallazgo la doble relación lineal, sospechada anteriormente.

Y gráficamente, puede observarse que la distribución de los datos en los ejes de coordenadas es tal que permite representar 2 segmentos lineales, cada uno correspondiente a un rango diferente de dosis de morfina: 50, 10 y 5 mcg y 1, 0.1, y 0.05 mcg, respectivamente.

Por lo tanto, con objeto de estudiar la relación dosis--respuesta por separado, de cada uno de estos 2 supuestos segmentos lineales, a través de la estimación optimizada de la DE_{50} y Emax teóricos, procedimos al análisis de correlación y regresión de los datos experimentales transformados según el modelo x(área/dosis)- y (área) y correspondientes a cada uno de los segmentos citados:

a) Rango superior de dosis (50, 10 y 5 mcg):

Los valores obtenidos de DE_{50} y Emax y para cada voluntario pueden observarse en las columnas CTRL correspondientes de la TABLA 2.

En todos los casos los Emax teóricos, estimados matemáticamente, son valores superiores a los obtenidos experimentalmente, incluso con la dosis más elevada de morfina, como puede comprobarse de la comparación de las TABLAS 1 y 2.

Así, la media aritmética de las áreas de las pápulas inducidas por la dosis más elevada de morfina (50 mcg) es de 237.8 mm^2 (TABLA 1), mientras que la media aritmética de los Emax para el rango superior de dosis de morfina, es de 256.16 mm^2 (TABLA 2).

Por su parte, las DE_{50} estimadas, con una media de 3.59 $\pm$ 1.23 mcg (TABLA 2), están claramente desplazadas hacia la zona más baja del rango de dosis que estamos considerando.

b) Rango inferior de dosis (1, 0.1 y 0.05 mcg):

Los valores obtenidos de DE_{50} y Emax y para cada volun-

tario, pueden observarse en las columnas CTRL correspondientes de la TABLA 2.

En todos los casos los Emax teóricos estimados matemáticamente son valores superiores a los obtenidos experimentalmente, incluso con la dosis más elevada de morfina (1 mcg) como puede comprobarse de la comparación de las TABLAS 1 y 2.

Así, la media aritmética de las áreas de las pápulas inducidas por la dosis más elevada de morfina (1 mcg) es de 132.5 mm^2 (TABLA 1) mientras que la media aritmética de los Emax para el rango inferior de dosis de morfina es de 142.41 mm^2 (TABLA 2).

Por su parte, las DE_{50} estimadas, con una media de 0.069 $\pm$ 0.01 mcg (TABLA 2), están claramente comprendidas dentro del rango de dosis de morfina considerado.

B). Influencia de la naloxona sobre los efectos de la morfina intradérmica.

1. Resultados esperimentales:

Las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de morfina en cada voluntario, tanto antes (columnas CTRL) como después de la administración subcutánea

de naloxona (columnas NALOX.) aparecen reflejadas en la TABLA 1.

Como puede observarse, las áreas de las pápulas por morfina en presencia de naloxona, al menos para las dosis de 0.05, 0.1 y 1 mcg, son en todos los casos menos en uno, inferiores a las obtenidas para las mismas dosis en ausencia de naloxona y, en la mayoria de ellos, esto representa una importante reducción.

Estas diferencias son igualmente apreciables para los valores de las medias aritméticas de las áreas correspondientes a cada una de las 3 dosis citadas, siendo, además, estadísticamente signifivativas y al nivel que para cada dosis queda reflejado en dicha TABLA 1.

En cambio, para las dosis de morfina 5, 10 y 50 mcg, las áreas de las pápulas en presencia de naloxona, presentan un comportamiento ecléctico, siendo unas veces inferiores y otras superiores a las correspondientes en ausencia de naloxona y no sólo de un voluntario a otro, sino incluso dentro de los pares de valores observados para un mismo voluntario.

No obstante, las medias aritméticas de los datos obtenidos en presencia de naloxona, son, como en el caso anterior, inferiores a las correspondientes medias en ausen-

cia de naloxona, si bien ahora, como era de esperar, las diferencias observadas no son estadísticamente significativas, pudiendo explicarlas por simple probabilidad (casualidad en el muestreo al azar) ya que los valores de las t experimentales, interceptan mas de un 5% el área de la distribución teórica de la t de Student.

La prueba de significación por el test de Wilcoxon puede comprobarse fácilmente que conduce a idénticos resultados.

En la TABLA 2 quedan recogidas las DE_{50} y Emax para cada voluntario, obtenidas tanto antes (columnas CTRL) como después de la administración subcutánea de naloxona (columnas NALOX) y para ambos rangos de dosis, por separado.

Como puede observarse:

a) Para el rango superior de dosis, las DE_{50} de la morfina en el grupo control son unas veces mayores y otras menores que las correspondientes del grupo en presencia de naloxona, resultando ser mínima la diferencia existente entre las medias aritméticas de ambos grupos y, desde luego, no es significativa.

b) En cambio, para el rango inferior de dosis, las DE_{50} de la morfina constantemente ven incrementado su valor

desde los datos control hacia los datos en presencia de naloxona, estando las diferencias observadas para las medias aritméticas en este caso, mas allá de lo que se puede explicar por probabilidad, ya que el valor experimental de la t intercepta menos del 1% del área de la distribución teórica del estadígrafo t de Student, siendo por tanto dichas diferencias, estadísticamente significativas (P menor 0.01).

c) Para ambos rangos de dosis, los Emax estimados tienen un comportamiento similar en cuanto a su valor comparativo antes y después de naloxona y aunque las diferencias observadas para las medias de los datos son en el sentido de cierta disminución del Emax en presencia de naloxona, no encontramos pruebas estadísticas que permitan rechazar la hipótesis contrastada de igual de las medias, ya que los valores experimentales de la t interceptan entre un 20 y un 60% del área de la distribución teórica, siendo éste el porcentaje de error que asumiríamos de aceptar la reducción del Emax observado como efecto de la naloxona en lugar de como efecto del muestreo al azar o casualidad.

d) La prueba de significación por el test de Wilcoxon para muestras apareadas, puede comprobarse fácilmente

que conduce a idénticos resultados.

e) En la GRAFICA 5 puede apreciarse el desplazamiento sufrido hacia la derecha de la recta de regresión correspondiente a las áreas de las pápulas en presencia de naloxona, con respecto a la obtenida para el control, lo que corresponde a un aumento de la DE_{50} de la morfina, que resulta ser estadísticamente significativo (P menor 0.01) para el caso del rango de dosis inferior del fármaco.

RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS CONTROLES DE SUERO FISIOLOGICO E HISTAMINA.

En TABLA 3 quedan recogidas las áreas de las pápulas inducidas tras la administración de 0.1 ml de suero fisiológico sólo y conteniendo 1 y 4 mcg de histamina, control negativo y controles de efectos antihistamínicos directos, respectivamente.

Como puede comprobarse en la citada tabla y en todos los casos las diferencias observadas para las medias de los resultados con suero fisiológico e histamina, antes y despues de naloxona, son cuantitativamente mínimas y estadísticamente no significativas.

C). Influencia de los antihistamínicos convencionales y de los de acción estabilizadora de los mastocitos sobre los efectos de la morfina intradérmica.

1. Datos experimentales

Las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de histamina y para los 2 rangos de dosis de morfina considerados, tanto en presencia del placebo como de ambos antihistaminicos quedan recogidas en las TABLAS 4, 5 y 6 respectivamente.

Como puede observarse, tanto el astemizol como la oxatomida determinan claros porcentajes de inhibición del área de las pápulas producidas tanto por la histamina como por la morfina, respecto de las recogidas en presencia del placebo, siendo en todos los casos las diferencias observadas estadisticamente significativas y al nivel que para cada caso queda recogido en las citadas tablas.

2. Análisis de la relación dosis-respuesta

La administración vía intradérmica, tanto de histamina como de morfina, produjo pápulas de forma dosis-dependiente.

La cuantificación matemática de esta relación por el método de regresión lineal aplicado a las parejas de datos

x(área/dosis)- y 'área) y su representación gráfica, puede observarse en las gráficas respectivas, tanto para la histamina como para cada rango de dosis de morfina (GRAFICAS 6 a 17).

Los valores de las DE_{50} y Emax de los agonistas, estimados matemáticamente a partir de las correspondientes ecuaciones de las rectas de regresión, quedan recogidos en la TABLA 7 en el caso de la histamina y en las TABLAS 8 y 9 para cada rango de dosis de morfina.

Como puede observarse en la TABLA 10, la DE_{50} de la histamina y morfina en presencia del correspondiente fármaco antagonista son claramente superiores a las obtenidas en presencia del placebo, siendo las diferencias estadísticamente significativas, lo que gráficamente correspondería a un desplazamiento hacia la derecha de la curva dosis-respuesta (GRAFICAS 18, 19, 20 y 21).

3. Analisis comparativo del grado de antagonismo de ambos fármacos:

Los 2 fármacos se mostraron equiactivos en su acción antagonista de la histamina, como queda reflejado en la TABLA 11, en la que puede constatarse que no existen diferencias significativas entre la DE_{50} de la histamina en presencia de astemizol, frente a la obtenida en pre-

sencia de oxatomida, aún más cuando tampoco son significativas las diferencias entre las DE_{50} de la histamina en ambos grupos de voluntarios, frente al placebo.

Sin embargo, en el caso de la morfina, el comportamiento de ambos antagonistas parece claramente distinto al observado para la histamina.

Así, puede comprobarse en la TABLA 12 que la oxatomida se muestra significativamente más activa que el astemizol en su efecto antagonista de la morfina y ésto ocurre para ambos rangos de dosis de morfina estudiados.

Expresando dicha acción antagonista en términos de la potencia agonista de la morfina observada en el respectivo grupo control frente al placebo, puede fácilmente calcularse que la oxatomida es 2.5 veces más activa que el astemizol como antagonista de la morfina en el rango inferior de dosis, siéndolo una vez y media más en el superior.

De otra parte, la eficacia de la histamina (en términos farmacológicos) es similar en ambos casos, pues no existen diferencias entre sus Emax estimados en presencia de astemizol, frente a los calculados en presencia de oxatomida (TABLA 11).

En estos mismos términos de eficacia, los resultados obtenidos para la morfina son, en este caso, similares (TABLA 9).

D). Influencia de los bloqueadores de los canales lentos del calcio sobre los efectos de la morfina intradérmica.

Estudio con dosis únicas de diltiazem:

1. Las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de morfina en presencia del placebo y de la dosis única de 240 mg de diltiazem, voluntario por voluntario, a los 10 y 20 min, de cada inyección, así como sus medias aritméticas y desviaciones estandar, aparecen reflejadas en las TABLAS 13 y 14.

2. De la comparación de las TABLAS 13 y 14 (placebo y diltiazem 240 mg respectivamente) puede afirmarse que no existen diferencias cuantificables entre ambas situaciones experimentales, ni a los 10 ni a los 20 minutos de la medición.

Estudio con dosis múltiples de diltiazem:

1. En cuanto a los efectos de las dosis múltiples de diltiazem (180 mg durante 7 dias o placebo en estudio cruzado) sobre las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de morfina y frente a los efectos

del placebo, pueden observarse en la TABLA 15.

2. De acuerdo con los datos recogidos en dicha tabla no existen diferencias cuantitativamente importantes en las medias de las áreas de las pápulas que permitan distinguir entre los efectos del diltiazem y del placebo.

E). Comparación de los efectos de la morfina y buprenorfina por via intradérmica.

1. Resultados experimentales:

Las áreas de las pápulas inducidas por las diferentes dosis de buprenorfina, en cada voluntario, tanto antes (CTRL) como después de la administración subcutánea de naloxona (NALOX), aparecen reflejadas en la TABLA 16.

Como puede observarse, las áreas de las pápulas por buprenorfina tanto antes como después de la administración de naloxona, no presentan diferencias cuantitativamente importantes y esto ocurre para todos los voluntarios y en todo el rango de dosis estudiado.

Las pruebas de significación estadística para medias de muestras apareadas tanto de variables normales (Student) como no normales (Wilcoxon) no permiten rechazar la hipótesis contrastada de igualdad de las medias, siendo pues

las diferencias observadas no estadísticamente significativas.

2. Análisis de la relación dosis-respuesta a la buprenorfina:

El análisis de correlación, previa transformación semilogaritmica de la media aritmética de los resultados de los 6 voluntarios, pone de manifiesto (GRAFICA 22) un coeficiente de correlación r = 0.87 que alcanza la significación estadística al nivel límite generalmente aceptado del 5% (P menor 0.05).

La cuantificación mediante el análisis de regresión, recogido igualmente en dicha gráfica, permite observar una clara disociación del efecto producido por la dosis de 30 mcg de buprenorfina, del resto de los efectos cuantificados.

Este mismo tipo de análisis, pero aplicado previa transformación doble recíproca de los datos, conduce a idénticos resultados (GRAFICA 23), lo cual sugiere como en el caso de la morfina, la existencia de dos rangos de dosis de buprenorfina dentro de la gama estudiada.

Un rango inferior desde 1.25 mcg hasta 20 mcg y otro superior que comenzaría a partir de 30 mcg.

En efecto, idénticos análisis de ajuste matemático a los ya citados, de los datos correspondientes al rango de dosis de buprenorfina de 1.25, 2.5, 5, 10 y 20 mcg, conducen en el ajuste semologarítmico (GRAFICA 24) para la media aritmética de los resultados, a la obtención de un alto grado de relación lineal y significación estadística (P menor 0.001).

La transformación doble recíproca de los datos nos permite confirmar la linearidad y significatividad de la relación entre variables y, además, estimaciones optimizadas del Emax y de DE_{50} teóricos (TABLA 17).

No habiéndose observado diferencias significativas con los efectos de la buprenorfina después de la administración de naloxona, no hemos considerado de interés someter a estos últimos al análisis matemático descrito, por razones obvias de innecesaria y no justificada comparación.

DISCUSION

Como ya adelantábamos en la introducción, la capacidad de los narcóticos para liberar histamina y otros mediadores a partir de los mastocitos, tanto en humanos como en animales, es un hecho desde antiguo conocido (283, 304, 99, 301, 102, 87).

Asimismo es conocido como la morfina y otros narcóticos son capaces de inducir la "triple respuesta" en la piel humana (322, 283, 29, 105) y de animales (102, 226, 301).

Más aún, estudios "in vitro" con mastocitos aislados (89, 168, 138, 265) y con preparaciones de órgano aislado (102, 216), demuestran como la liberación de histamina por los narcóticos está relacionada con la dosis y ocurre por exocitosis sin citolisis.

En cuanto al mecanismo intimo por el que la morfina induce la liberación de histamina, parece admitirse de forma generalizada que está relacionado directamente con su naturaleza básica (catiónica) (107, 193, 229, 262, 266, 295, 158).

De hecho, son numerosos los compuestos de naturaleza básica capaces de liberar histamina a partir de los mastocitos, incluyendo fármacos de uso habitual como la codeína (138, 29, 306), guanetidina (193), estilbamidina (89),

tubocurarina (138, 68, 385, 226, 244, 265, 335, 342), metocurina (386), pancuronium (335), atropina (301), quinina (301), polimixina B (89, 197, 370, 374), etc.

No obstante, estudios realizados "in vitro" con mastocitos peritoneales de rata, parecen demostrar la participación de mecanismos específicos complejos en la acción estimulante de la degranulación de dichas células por los narcóticos.

En primer lugar es posible demostrar una clara relación dosis-respuesta entre concentración del agonista y cantidad de histamina liberada (89, 138).

La acción inhibidora del calcio sobre la liberación de histamina inducida por morfina "in vitro" (138), concuerda con el antagonismo general del calcio sobre los efectos centrales y periféricos de la morfina (254, 1).

La liberación depende de la presencia de calcio intracelular, ya que no hay respuesta a la morfina cuando las células son depleccionadas de calcio por tratamiento previo con el ionóforo A23187 (248, 76, 112, 211).

La acción inhibidora de la antimicina A indica que la liberación de histamina inducida por morfina requiere energía metabólica, sugiriendo, por tanto, un mecanismo

selectivo (89, 82).

En igual sentido apunta el hecho de que la naloxona "in vitro" sea capaz de antagonizar la liberación de histamina inducida por morfina (138, 168), y otros fármacos emparentados como codeína y meperidina (138), sugiriendo que estos 4 compuestos actúan sobre receptores comunes o estrechamente relacionados, en los mastocitos.

Parece evidente, pues, que en la liberación de mediadores por los mastocitos, inducida por morfina, intervienen complejos mecanismos que posiblemente incluyen sitios receptores en la célula y que ván mucho más allá de la simplista explicación basada en un mecanismo de desplazamiento de la histamina en los gránulos intracelulares, por la naturaleza básica de la morfina y sustancias afines.

Nuestros resultados confirman la capacidad de la morfina y buprenorfina para liberar histamina a nivel cutáneo en el hombre y, además, en forma dosis-dependiente.

Según se desprende de los resultado obtenidos con buprenorfina, sólo la dosis de 1.5 mcg de la misma, produjo pápulas de áreas superiores a las del control con suero fisiológico y, además tales áreas fueron superponibles a las obtenidas con la dosis más baja de morfina, es de-

cir, 0.05 mcg, por lo que puede concluirse que en nuestro modelo experimental la dosis de buprenorfina de 1.5 mcg, con igual capacidad de liberar histamina que la correspondiente de morfina (0.05 mcg), sería, en cambio, alrededor de 1000 veces más potente, en teoría, como analgésica, lo cual puede fácilmente comprobarse a partir de los datos expuestos.

Por otra parte, la dosis más alta de buprenorfina empleada (30 mcg) dentro del rango estudiado, sería teóricamente hablando en términos comparativos, alrededor de 20 veces más analgésica que la dosis más alta de morfina utilizada (50 mcg) y, sin embargo, su capacidad de liberar histamina, medida como el área media de las pápulas por ellas inducidas (TABLA 16, 110 mm^2) adecuadamente corregida en unidades de potencia analgésica relativa (110/20 = 5.5 mm^2), es alrededor de 40 veces menor que la capacidad de la morfina de liberar histamina, también medida como el área media de las pápulas por ella inducidas (TABLA 1, 237.8 mm^2) y asimismo corregida en unidades de potencia analgésica (237.8/1 = 237.8 mm^2).

En cuanto a la existencia de una relación matemática entre dosis y efectos, ha sido demostrado que esta es lineal, tanto para la buprenorfina como para la morfina, si bien en este último caso nuestros datos sugieren que

2 efectos diferentes están implicados y se corresponden con 2 rangos sucesivos de morfina.

Esto se evidencia claramente por la ausencia de linearidad del ajuste gráfico según el modelo matemático "efecto contra efecto/dosis", el cual constantemente produce una gráfica con 2 lineas rectas (GRAFICA 4) y, además, por la diferente influencia de la naloxona sobre estos dos aparentes efectos (TABLA 1).

Para la buprenorfina, el claro desajuste de la dosis más alta en la transformación doble recíproca (GRAFICA 23) sugiere que el empleo de dosis aún mayores pudiera conducir a un efecto bifásico en la liberación de histamina, similar, en principio, al observado para la morfina.

En cuanto a la morfina, observamos que actúa en nuestro modelo experimental a concentraciones suficientemente pequeñas (0.05 mcg/0.1 ml y 50 mcg/0.1 ml, equivalen respectivamente a 1.5×10^{-6} M/litro y 1.5×10^{-3} M/litro) dando diferentes respuestas frente a distintas concentraciones y su efecto es antagonizado de forma especifica, actuando también el antagonista (naloxona) a concentraciones a priori suficientemente pequeñas.

En relación con la naloxona, ésta no parece antagonizar

los efectos de la buprenorfina, por lo que pudiéramos sospechar que ésta última liberaría histamina por mecanismos diferentes a los de la morfina, cuyos efectos, en cambio, si son significativamente (P menor 0.01) antagonizados por la naloxona, al menos para el rango inferior a dosis utilizado.

Todos estos hechos considerados en conjunto implican la reacción de los fármacos citados, con un sitio específico ó receptor, situado, cuando menos, en la membrana celular del mastocito, donde inducirían cambios en su permeabilidad conduciendo a la respuesta secretora.

No obstante, al existir para la morfina 2 tipos diferentes de relaciones lineales dosis-respuesta, esto podría sugerir la existencia de 2 tipos de receptores ó mecanismos de acción para la morfina a nivel del mastocito, en cuanto a la liberación de histamina.

Unicamente el primer tipo de mecanismo es antagonizable por la naloxona, al menos a la dosis de 0.4 mg empleada, de tal manera que la afiridad de la morfina por dicho receptor disminuye en relación con la observada en ausencia de naloxona.

Pero, en cambio, la eficacia de la morfina no varía en

presencia de naloxona, siendo las diferencias observadas para los Emax respectivos (TABLA 2) no estadísticamente significativas, al menos para la dosis de 0.4 mg de naloxona administrada.

Estos datos sugieren que el antagonismo observado pudiera ser de tipo remontable, es decir, competitivo a nivel del mismo receptor.

Al no haber habido diferencias estadísticamente significativas entre las áreas de las pápulas inducidas por suero fisiológico, solo y conteniendo las 2 diferentes dosis de histamina, antes y después de la administración de naloxona, a lo largo de toda la experiencia tanto con morfina como con buprenorfina (TABLA 3) podemos concluir que muy posiblemente el efecto antagonista competitivo de la naloxona frente a las dosis bajas de morfina, se deba únicamente a dicha competición a nivel del receptor del mastocito para la morfina, y no además ó en parte, a una acción antagonista de la naloxona a nivel de los propios receptores de la histamina ó a un efecto directo sobre la permeabilidad capilar y/o a una inhibición inespecifica debida al suero fisiológico utilizado como veniculo de la inyección.

Por otra parte, ha sido publicado (158) que la naloxona,

10 a 20 mcg/kg, no previene los cambios en la resistencia y capacitancia de los vasos, inducida por la administración intraarterial de morfina.

Estos cambios son, presumiblemente, debidos a la liberación de histamina, pero las dosis de morfina que los producen (0.5 a 1 mg/kg intraarterialmente) están probablemente más de acuerdo con el rango de dosis altas que con el rango de dosis bajas utilizados en nuestro estudio.

En efecto, cuando la morfina se administra por via intravenosa (15 mg) la concentración de la misma que produce un 70% de reducción en la resistencia vascular periférica, está más en consonancia con el rango de dosis bajas utilizado por nosotros y en este caso la naloxona, 0.8 mg intravenosa, revierte completamente la vasodilatación inducida por la morfina (64).

Por todo ello es tentador sugerir la participación de los receptores opiáceos en la liberación de histamina por morfina a nivel de los mastocitos cutáneos en el hombre.

Aunque cualquier intento de interpretar el papel de estos receptores en los mastocitos podría ser demasiada especulación, es en cambio apropiado mencionar que dichos re-

ceptores opiáceos han sido encontrados en linfocitos (227, 231, 372), macrófagos (387), plaquetas (231, 388) y eritrocitos (1).

Por su parte las pápulas producidas por buprenorfina no son antagonizadas por naloxona, al menos a la dosis citada de 0.4 mg.

Al cuantificarse un mismo tipo de efecto tanto para la morfina como para buprenorfina, sería admisible afirmar que la eficacia comparada de la buprenorfina es un 26% aproximadamente del Emax obtenido para el rango superior de dosis de morfina siendo, pues, el mecanismo de acción implicado para la buprenorfina, el menos eficaz en cuanto a la liberación de histamina.

Por todo lo expuesto hasta ahora podemos sin duda afirmar que en el hombre la buprenorfina tiene una reducida capacidad de liberar histamina a partir de los mastocitos de la piel, siendo prácticamente nula a dosis teóricamente equianalgésicas a las de morfina (1.5 frente a 50 mcg respectivamente); aproximadamente 40 veces menor a dosis teóricamente 20 veces más analgésicas que las correspondientes de morfina (30 mcg frente a 50 mcg respectivamente) y una capacidad similar de liberar histamina a dosis teóricamente unas 1000 veces más analgésicas

que las correspondientes de morfina (1.5 mcg frente a 0.05 mcg respectivamente).

Concluimos, finalmente, sugiriendo con la debida cautela, que la posibilidad de fenómenos cardiovasculares como efectos adversos de la morfina en los que la histamina liberada participe en grado suficiente pudiera ser de mínima incidencia en el caso de emplear buprenorfina como fármaco de elección, ya que el rango tóxico para este efecto pudiera ser mucho más elevado para la buprenorfina.

No obstante, es imprescindible valorar estas últimas sugerencias en su justo alcance debido a su caracter obligatoriamente especulativo.

Otra de las cuestiones que intentábamos responder en este estudio, era si la oxatomida tendría alguna acción "antialérgica" a nivel de la piel humana, además de su propia actividad antihistamínica.

Si la oxatomida inhibiera de forma significativa la liberación de mediadores a partir de los mastocitos de la piel, además de antagonizar a la histamina a nivel de su receptor, debería comportarse como un antagonista más efectivo que un antihistamínico puro (astemizol) (20,

356) de las pápulas inducidas por la morfina.

Tal hipótesis estaria supeditada a la demostración previa de que en idénticas condiciones, la actividad antihistamínica de ambos fármacos fuese similar si se acudiera a dosis y tiempos de observación apropiados.

El análisis de nuestros resultados a partir de las curvas dosis-respuesta a la histamina y morfina, parece demostrar claramente tales supuestos.

Como era de esperar, ambos antagonistas por su acción antihistamínica directa a nivel del receptor H_1, determinan un desplazamiento hacia la derecha de la curva dosis-respuesta a la histamina que, en las condiciones de nuestro modelo experimental, resulta ser similar para ambos (GRAFICAS 20 y 21). Como además, en todos los casos, los Emax de la histamina frente al placebo no son modificados significativamente por los antagonistas, podríamos hablar de antagonismo de tipo competitivo (TABLA 7).

En el caso de la morfina, también puede observarse como su DE_{50} aumenta significativamente en presencia de ambos antagonistas (GRAFICAS 18 y 19), pero en cambio, a diferencia de lo observado para la histamina, la DE_{50} de la morfina aumenta significativamente más en presencia

de oxatomida que de astemizol, lo que fuertemente sugiere que aquella no solo es antagonista de los receptores H_1 sino que además es capaz de inhibir la liberación de mediadores por morfina a partir de los mastocitos cutáneos.

Esto concuerda con su capacidad de inhibir la liberación anafiláctica de histamina descrita en tejido pulmonar humano y leucocitos basófilos "in vitro" (281, 61).

En nuestro caso, el hecho objetivo es que con una actividad antihistaminica directa comparable, la oxatomida se muestra en cambio, claramente superior al astemizol en su actividad antimorfina, al menos en términos de potencia y para el rango de dosis de dicho agonista estudiado. Todo lo cual permite sugerir que la oxatomida tiene una actividad "antialergica" adicional, al menos a nivel de los mastocitos de la piel en el hombre.

Esta discriminación entre oxatomida y astemizol se pone de manifiesto tanto con concentraciones bajas como altas de morfina (TABLAS 8 y 9) y a menos que futuros estudios demuestran lo contrario, cualquiera de los dos rangos usados por nosotros parecen igualmente útiles para la evaluación de agentes capaces de inhibir la liberación de histamina en el hombre.

En cuanto a nuestros resultados con diltiazem, ni administrado a dosis únicas ni a dosis múltiples, han podido demostrarse diferencias estadisticamente significativas frente al placebo sobre las áreas de las pápulas inducidas por morfina.

Quizás el hecho de que la morfina actúe provocando la entrada de calcio extracelular y además movilizándolo de sus depósitos intracelulares (115, 56, 15, 114), justifique el fracaso del diltiazem que por su mecanismo de acción sólo antagonizaria el primero de dichos procesos (228).

En este sentido parece apuntar el hecho de que el diltiazem a dosis múltiples haya sido capaz de inhibir de forma clara frente al placebo, al menos en 2 voluntarios, los efectos producidos por las dosis más bajas de morfina, precisamente las que se presupone que actúan únicamente promoviendo la entrada del calcio extracelular, único mecanismo que potencialmente podría antagonizar el diltiazem.

CONCLUSIONES

1. La inyección intradérmica de morfina y buprenorfina en el hombre dá lugar a la formación de una pápula y eritema en todo idénticos a los producidos por histamina, habitualmente conocidos como "triple respuesta de Lewis".

2. Las áreas de las pápulas inducidas tanto por morfina como por buprenorfina a nivel cutáneo en el hombre, son dosis-dependientes.

3. La buprenorfina, a dosis equianalgésicas a las de la morfina, tiene una capacidad de liberar histamina, prácticamente nula.

4. La naloxona es capaz de antagonizar los efectos de la morfina a dosis bajas, de manera competitiva.

5. Los efectos de la buprenorfina inyectada intradérmicamente, no son antagonizables por naloxona al menos a la dosis empleada en este estudio.

6. El receptor opiáceo parece estar claramente implicado en el mecanismo liberador de mediadores, por los mastocitos, inducidos por morfina.

7. Tanto astemizol como oxatomida muestran una accion

antihistaminica directa a nivel de receptores H_1, similar en las condiciones experimentales de este estudio.

8. La oxatomida se manifiesta claramente superior al astemizol en su capacidad antimorfina cuando ambos se emplean a dosis equiefectivas como antihistamínicos, lo que sugiere un efecto estabilizador de los mastocitos.

9. En nuestras condiciones experimentales, el diltiazem no es capaz de antagonizar los efectos de la morfina inyectada intradérmicamente.

10. El modelo experimental propuesto por nosotros parece válido para diferenciar fármacos antihistamínicos de fármacos antialérgicos o estabilizadores de mastocitos.

TABLAS Y GRAFICAS

DOSIS MCG/0.1 ML.	MORFINA											
	0.05		0.1		1		5		10		50	
	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.
VOL. 1	73	30	86	46	125	129	189	146	204	175	309	232
VOL. 2	50	23	91	53	153	117	188	158	197	170	228	236
VOL. 3	56	38	72	71	104	100	117	170	158	178	176	235
VOL. 4	49	24	82	54	118	99	147	130	192	150	254	216
VOL. 5	72	19	103	38	165	76	215	131	224	160	242	224
VOL. 6	53	37	88	47	125	92	127	137	181	167	218	225
$\bar{X}$	58.8	28.5	87	51.5	132.5	102.2	163.8	145.3	192.7	166.7	237.8	228
EE	4.86	3.5	4.58	5	10.66	8.35	17.51	7.15	9.93	4.61	19.65	3.45
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
t	5.076		4.171		2.637		0.968		2.260		0.520	
P<	0.01		0.01		0.05		N.S		N.S.		N.S.	

AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION, ANTES Y DESPUES DE LA ADMINISTRACION SUBCUTANEA DE 0.4 MG DE NALOXONA. TABLA 1

MORFINA	RANGO SUPERIOR (50-10-5-MCG /0.1 ML)				RANGO INFERIOR (1-0.1-0.05 MCG /0.1 ML)			
	DE_{50}		E. MAX		DE_{50}		E. MAX	
	CTRL.	NALOX	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.
VOL. 1	8.29	3.51	356.73	244.52	0.039	0.17	126.84	154.53
VOL. 2	1.19	4.78	228.86	256.97	0.11	0.20	177.60	137.09
VOL. 3	2.82	2.15	190.56	234.85	0.048	0.074	108.21	108.59
VOL. 4	4.40	3.95	276.48	225.03	0.072	0.14	128.54	109.66
VOL. 5	0.70	4.31	243.38	238.72	0.073	0.16	177.23	87.88
VOL. 6	4.11	3.86	240.97	238.93	0.069	0.087	136.01	96.46
$\bar{X}$	3.59	3.73	256.16	239.84	0.059	0.138	142.41	115.70
EE	1.23	0.40	25.27	4.74	0.011	0.022	12.8	11.31
	—	—	—	—	—	—	—	—
t	0.137		0.698		4.039		1.632	
P<	N.S.		N.S.		0.01		N.S.	

DOSIS EFICACES 50 (DE_{50}) Y EFECTOS MAXIMOS PARA CADA RANGO DE DOSIS DE MORFINA, OBTENIDOS EN CADA CASO ANTES Y DESPUES DE LA ADMINISTRACION SUBCUTANEA DE 0.4 MG DE NALOXONA. TABLA 2.

	SUERO FISIOLOGICO 0.1 ML.				HISTAMINA 1 MCG/0.1 ML.				HISTAMINA 4 MCG/0.1 ML.			
	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.
VOL. 1-1	53	31	54	27	183	158	213	173	201	242	243	192
VOL. 2-2	22	54	37	36	139	172	144	172	223	209	218	210
VOL. 3-3	31	36	31	25	153	174	129	150	217	151	187	220
VOL. 4-4	42	47	39	29	178	152	169	143	174	194	215	188
VOL. 5-5	40	40	15	19	163	141	160	153	210	192	248	213
VOL. 6-6	35	30	41	57	140	154	141	141	195	160	181	203
$\bar{X}$	37.17	39.67	36.17	32.17	159.33	156.83	159.33	155.3	203.3	191.3	215.33	204.33
EE	4.71	4.20	5.74	5.98	8.37	4.75	13.16	6.27	7.20	13.53	12.36	5.56
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
t	0.348		0.679		0.244		0.373		4.053		0.815	
P<	N.S		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.	

AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR 0.1 ML DE SUERO FISIOLOGICO SOLO Y CONTENIENDO 1 Y 4 MCG DE HISTAMINA A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION ANTES Y DESPUES DE LA ADMINISTRACION SUBCUTANEA DE 0.4 MG DE NALOXONA EN LOS VOLUNTARIOS DEL ESTUDIO. TABLA 3

	HISTAMINA												
MCG/0.1 ML.	0.5		1		2		0.5		1		2		MCG/0.1 ML.
	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	OXAT.	PLAC.	OXAT.	PLAC.	OXAT.	
VOL. 1	166.6	100.0	197.9	131.7	224.2	161.5	126.4	83.7	160.0	122.5	186.2	161.1	VOL. 7
VOL. 2	153.6	116.9	185.0	164.5	219.9	209.0	103.0	71.5	128.5	100.7	145.6	128.0	VOL. 8
VOL. 3	137.9	103.1	168.4	141.0	193.1	176.6	171.4	120.2	205.3	170.0	234.5	220.1	VOL. 9
VOL. 4	149.6	97.7	181.3	129.0	200.5	154.4	103.7	74.9	138.3	114.0	164.2	153.7	VOL. 10
VOL. 5	88.3	46.6	106.5	63.8	121.6	78.9	137.7	98.3	170.1	141.7	195.1	184.2	VOL. 11
VOL. 6	167.3	84.9	197.7	110.2	214.2	128.3	179.0	114.1	207.9	144.5	229.5	166.1	VOL. 12
$\bar{X}$	143.9	91.5	172.8	123.4	195.6	151.5	137.7	93.5	168.4	132.2	192.5	168.9	$\bar{X}$
±EE	12.00	9.92	14.00	13.94	15.56	18.12	12.92	8.31	13.53	10.15	14.35	12.69	EE±
% inhibicion	—	36%	—	29%		23%	—	32%	—	21%	—	12%	% inhibicion
t	6.810		4.858		3.840		3.656		6.206		2.868		t
P<	0.01		0.01		0.02		0.001		0.01		0.05		>P

AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS PRODUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE HISTAMINA EN PRESENCIA DEL PLACEBO, DE ASTEMIZOL, Y DE OXATOMIDA, A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION.- **TABLA 4**

	MORFINA												
MCG/0.1 ML	5		10		50		5		10		50		MCG/0.1 ML
	PLBO.	AST.	PLBO.	AST.	PLBO.	AST.	PLBO.	OXAT.	PLBO.	OXAT.	PLBO.	OXAT.	
VOL. 1	222.2	150.5	256.6	183.6	272.1	213.0	202.3	84.8	219.0	127.0	229.3	187.0	VOL. 7
VOL. 2	194.7	118.1	258.6	176.0	329.0	260.0	221.5	79.2	250.0	116.6	265.0	168.0	VOL. 8
VOL. 3	218.0	128.0	266.0	184.0	302.8	253.0	189.4	111.8	248.0	172.7	311.0	275.0	VOL. 9
VOL. 4	203.1	123.2	244.0	179.5	271.0	255.0	186.7	94.8	252.0	143.0	327.0	215.0	VOL. 10
VOL. 5	177.4	141.8	191.0	165.5	198.0	178.0	188.7	97.1	235.6	147.0	275.0	224.8	VOL. 11
VOL. 6	204.8	123.6	254.9	173.5	301.8	234.0	194.8	97.3	235.6	149.6	266.0	236.0	VOL. 12
$\bar{X}$	203.4	130.9	245.2	177.0	279.1	232.2	197.2	94.2	240.0	142.7	278.9	217.7	$\bar{X}$
EE	6.6	5.1	11.2	2.9	18.5	13.0	5.4	4.6	5.1	8.0	14.4	15.4	EE
% DE INHIBICION	—	36 %	—	28 %	—	17 %	—	52 %	—	41 %	—	22 %	% DE INHIBICION
t	9.319		7.571		4.894		10.898		11.489		4.350		t
P <	0.001		0.001		0.01		0.001		0.001		0.01		> P

TABLA 5 .- AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS PRODUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA EN PRESENCIA DEL PLACEBO, DE ASTEMIZOL Y DE OXATOMIDA , A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION.

	MORFINA												
MCG/0.1 ML.	0.05		0.1		1		0.05		0.1		1		MCG/0.1 ML.
	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	OXAT.	PLAC.	OXAT.	PLAC.	OXAT.	
VOL. 1	58.7	20.8	85.2	36	132	89	60.5	9.6	91	17.3	159.1	59.9	VOL. 7
VOL. 2	57.5	22.1	90.6	38.4	170	98	65.2	8.7	93.2	16	159	53	VOL. 8
VOL. 3	58.1	19.2	88	32.5	149	75	60.9	10.1	93.1	19.6	169.3	80.9	VOL. 9
VOL. 4	56.9	20.9	87.5	36.3	154	93	52.6	9.3	82.7	18	154	74.5	VOL. 10
VOL. 5	54.9	20.6	77.4	34.6	115	79	70.6	10.8	101.4	20	154	71.9	VOL. 11
VOL. 6	54	21.2	83.3	36.1	157	85	72.8	10.5	106	19.6	159.8	77.2	VOL. 12
$\bar{X}$	56.6	20.8	85.3	36.7	146.2	86.5	63.8	9.8	94.6	18.5	155.9	69.6	$\bar{X}$
EE	.799	.386	1.89	.803	8.01	3.52	3.02	.328	3.34	.600	4.07	4.41	EE
% inhibicion	—	63%	—	57%		41%	—	85%	—	80%	—	55%	% inhibicion
t	37.584		27.738		8.097		18.947		25.199		28.986		t
P<	0.001		0.001		0.001		0.001		0.001		0.001		>P

AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS PRODUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA EN PRESENCIA DEL PLACEBO, DE ASTEMIZOL, Y DE OXATOMIDA, A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION. TABLA 6

	HISTAMINA								
ASTEMIZOL	DE_{50}		E.MAX.		DE_{50}		E.MAX.		OXATOMIDA
	PLBO.	AST.	PLBO.	AST.	PLBO.	OXAT.	PLBO.	OXAT.	
Vol. 1	.258	.513	252	202	.374	.891	221	232	Vol. 7
Vol. 2	.325	.712	251	283	.260	.715	164	173	Vol. 8
Vol. 3	.306	.622	222	231	.277	.765	265	303	Vol. 9
Vol. 4	.257	.479	227	191	.484	1.080	204	237	Vol. 10
Vol. 5	.285	.600	138	102	.322	.875	226	265	Vol. 11
Vol. 6	.207	.411	237	155	.206	.359	252	196	Vol. 12
$\bar{X}$	.273	.556	221.1	193.9	.321	.781	221.9	234.4	$\bar{X}$
±EE	.017	.045	17.3	25.3	.040	.099	14.8	19.00	±EE
% DE AUMENTO	—	51 %	—	—	—	59 %	—	—	% DE AUMENTO
t	10.0800		1.6190		7.1190		0.8510		t
P <	0.001		N.S.		0.001		N.S.		> P

TABLA 7.- DE_{50} Y E.Max. PARA EL RANGO DE DOSIS DE HISTAMINA EMPLEADO(0.5,1,2 mcg/0.1 ml),EN PRESENCIA DEL PLACEBO , DE ASTEMIZOL Y DE OXATOMIDA.

MORFINA (DE_{50})

MCG/0.1 ML	RANGO INFERIOR (0.05-0.1-1)		RANGO SUPERIOR (5-10-50)		RANGO INFERIOR (0.05-0.1-1)		RANGO SUPERIOR (5-10-50)		MCG/0.1 ML
	PLBO.	AST.	PLBO.	AST.	PLBO.	OXAT.	PLBO.	OXAT.	
VOL. 1	.069	.204	1.27	2.41	.094	.379	.754	7.57	VOL. 7
VOL. 2	.113	.217	4.11	7.56	.062	.360	1.11	6.99	VOL. 8
VOL. 3	.088	.177	2.24	5.97	.103	.561	3.81	9.51	VOL. 9
VOL. 4	.097	.218	1.91	6.63	.111	.569	4.51	8.04	VOL. 10
VOL. 5	.061	.173	.656	1.41	.065	.417	2.65	8.41	VOL. 11
VOL. 6	.111	.185	2.76	5.43	.066	.491	2.10	9.24	VOL. 12
$\bar{X}$	.090	.196	2.16	4.91	.084	.463	2.49	8.29	$\bar{X}$
EE	.009	.008	.49	.99	.009	.037	.60	.40	EE
% DE AUMENTO	----	54 %	----	56 %	----	82 %	----	70 %	% DE AUMENTO
t	11.786		4.354		11.854		11.241		t
P <	0.001		0.01		0.001		0.001		> P

TABLA 8 .- DE_{50} PARA CADA RANGO DE DOSIS DE MORFINA , OBTENIDAS EN PRESENCIA DEL PLACEBO , DE ASTEMIZOL Y DE OXATOMIDA.

MORFINA (E.MAX.)

MCG/0.1 ML	RANGO INFERIOR (0.05-0.1-1)		RANGO SUPERIOR (5-10-50)		RANGO INFERIOR (0.05-0.1-1)		RANGO SUPERIOR (5-10-50)		MCG/0.1 ML
	PLBO.	AST.	PLBO.	AST.	PLBO.	OXAT.	PLBO.	OXAT.	
VOL. 1	141.9	107.5	282.4	224.7	174.4	82.7	233.7	217.2	VOL. 7
VOL. 2	190.0	119.6	358.6	301.8	148.6	72.1	273.2	193.1	VOL. 8
VOL. 3	163.0	88.6	319.3	286.0	187.1	126.5	337.0	329.5	VOL. 9
VOL. 4	169.8	113.6	284.3	291.3	171.9	116.6	359.1	251.6	VOL. 10
VOL. 5	122.8	92.9	201.6	185.2	165.0	102.0	292.2	264.5	VOL. 11
VOL. 6	174.7	101.0	320.6	261.6	171.6	115.3	279.7	281.6	VOL. 12
$\bar{X}$	160.4	103.9	294.5	258.4	169.8	102.5	295.8	256.3	$\bar{X}$
EE	9.9	4.9	21.8	18.5	5.2	8.7	18.6	19.7	EE
% DE REDUCCION	--	35 %	--	12 %	--	40 %	--	13 %	% DE REDUCCION
t	6.910		3.257		11.597		2.203		t
P <	0.001		0.05		0.001		N.S.		> P

TABLA 9 E. MAX. PARA CADA RANGO DE DOSIS DE MORFINA, OBTENIDOS EN PRESENCIA DEL PLACEBO, DE ASTEMIZOL Y DE OXATOMIDA.

05-1-2 mcg/0.1 ml.	HISTAMINA DE_{50}				MORFINA DE_{50}				0.05-0.1-1 mcg/0.1 ml.
	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	OXAT.	PLAC.	ASTEM.	PLAC.	OXAT.	
VOL. 1	.258	.513	.374	.891	.069	.204	.094	.379	VOL. 7
VOL. 2	.325	.712	.260	.715	.113	.217	.062	.360	VOL. 8
VOL. 3	.306	.622	.277	.765	.088	.177	.103	.561	VOL. 9
VOL. 4	.257	.479	.484	1.080	.097	.218	.111	.569	VOL. 10
VOL. 5	.285	.600	.322	.875	.061	.173	.065	.417	VOL. 11
VOL. 6	.207	.411	.206	.359	.111	.185	.066	.491	VOL. 12
$\bar{X}$	.273	.556	.321	.781	.0898	.196	.0835	.463	$\bar{X}$
EE	.017	.045	.040	.099	.009	.008	.009	.0372	EE
% de aumento	—	51%	—	59%	—	54%	—	82%	% de aumento
t	10.080		7.119		11.786		11.854		t
P<	0.001		0.001		0.001		0.001		>P

DE_{50} PARA EL RANGO DE DOSIS DE HISTAMINA Y MORFINA EMPLEADO EN PRESENCIA DEL PLACEBO, DE ASTEMIZOL Y DE OXATOMIDA. TABLA 10.

— H I S T A M I N A (0.5;1;2 MCG/0.1 ML)

TEST DE STUDENT : MUESTRAS INDEPENDIENTES .		TEST DE VARIANZAS (α = 0.05)					
		F EXP.	$n_1;n_2$	F α	t	g.l.	P α
DE_{50}	PLBO.(VOLS.1-6) VS PLBO.(VOLS.7-12)	5.500	5;5	5.05	1.0834	5;5	N.S.*
	AST.(VOLS.1-6) VS OXAT.(VOLS.7-12)	4.931	5;5	5.05	2.0727	10	N.S.*
E.MAX.	PLBO.(VOLS.1-6) VS PLBO.(VOLS.7-12)	-----	---	---	----	--	----
	AST.(VOLS.1-6) VS OXAT.(VOLS.7-12)	1.771	5;5	5.05	1.2811	10	N.S.**

TABLA **11** .- ESTUDIO DE LA SIGNIFICACION ESTADISTICA DE LAS DIFERENCIAS OBSERVADAS ENTRE LAS DE_{50} Y E.MAX. DE LA HISTAMINA EN AMBOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS. (NO SE ESTUDIA LA FILA TERCERA POR NO HABER DIFERENCIA EN LOS RESULTADOS.).

* AMBOS FARMACOS,PUES,SE MUESTRAN EQUIPOTENTES EN SU EFECTO ANTAGONISTA DE LA HISTAMINA.

** SU EFICACIA EN TERMINOS FARMACOLOGICOS TAMBIEN ES SIMILAR.

MORFINA (DE_{50}).-

TEST DE STUDENT : MUESTRAS INDEPENDIENTES .		TEST DE VARIANZAS (α = 0.05)					
		F EXP.	$n_1 ; n_2$	F_α	t	g.l.	P <
RANGO NFERIOR 05-.1-1)	PLBO.(VOLS.1-6) VS PLBO.(VOLS.7-12)	1.020	5;5	5.05	.5080	10	N.S.**
	AST.(VOLS.1-6) VS OXAT.(VOLS.7-12)	20.710	5;5	5.05	7.0239	5;5	0.001*
RANGO UPERIOR -10-50)	PLBO.(VOLS.1-6) VS PLBO.(VOLS.7-12)	1.500	5;5	5.05	.4253	10	N.S.**
	AST.(VOLS.1-6) VS OXAT.(VOLS.7-12)	6.390	5;5	5.05	3.1604	5;5	0.05*

TABLA **12** - ESTUDIO DE LA SIGNIFICACION ESTADISTICA DE LAS DIFERENCIAS OBSERVADAS EN LAS DE_{50} DE LA MORFINA ENTRE AMBOS GRUPOS DE VOLUNTARIOS Y PARA CADA RANGO DE DOSIS EMPLEADO.

* LA OXATOMIDA SE MUESTRA , PUES , SIGNIFICATIVAMENTE MAS POTENTE QUE EL ASTEMIZOL EN SU EFECTO ANTAGONISTA DE LA MORFINA.

** NO EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LAS DE_{50} DE LAS SERIES CON PLACEBO CORRESPONDIENTES A CADA GRUPO DE VOLUNTARIOS.

MORFINA DOSIS mcg / VOLUNTARIOS		0.05		0.1		1		5		10		50	
		10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.
VOL. 1		208	220	130	168	102	138	84	108	55	71	34	41
VOL. 2		152	134	97	108	73	84	57	56	44	35	18	28
VOL. 3		277	251	163	189	120	133	66	78	29	39	18	23
VOL. 4		192	192	145	141	126	124	102	92	61	55	26	34
VOL. 5		192	207	152	171	130	128	103	94	47	61	24	42
VOL. 6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\bar{X} \pm SD$	10M.	204±45.6		137±25.6		110±23.4		82±20.8		47±12.2		24±6.6	
	20M.	201±43.2		155±31.6		212±21.6		86±19.7		52±15.1		34±8.2	

TABLA 13.- AREAS DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA A LOS 10 Y 20 MINUTOS DE CADA INYECCION. FASE EN PRESENCIA DE PLACEBO.

MORFINA DOSIS mcg / VOLUNTARIOS		0.05		0.1		1		5		10		50	
		10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.	10 MIN.	20 MIN.
VOL. 1		109	114	96	105	70	96	51	77	23	55	17	35
VOL. 2		163	175	142	141	115	121	84	92	29	40	14	12
VOL. 3		366	357	160	194	109	100	77	71	34	36	15	26
VOL. 4		150	181	131	154	104	135	77	118	60	50	34	20
VOL. 5		191	233	165	203	134	173	94	104	58	62	23	44
VOL. 6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\bar{X} \pm SD$	10M.	201 ± 98.2		139 ± 27.6		106 ± 23.3		77 ± 15.9		41 ± 17.1		21 ± 8.3	
	20M.	212 ± 91.4		159 ± 40.1		125 ± 31.2		92 ± 19.3		49 ± 10.7		27 ± 12.5	

TABLA 14.- AREAS DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA A LOS 10 Y 20 MINUTOS DE CADA INYECCION. FASE EN PRESENCIA DE 240MG DE DILTIAZEM.

MORFINA DOSIS mcg / VOLUNTARIOS		0.05		0.1		1		5		10		50	
		P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D
VOL. 1		216	142	143	130	118	110	93	74	45	32	29	11
VOL. 2		185	281	147	192	141	177	103	140	34	82	12	47
VOL. 3		152	173	107	141	103	124	99	103	48	28	31	12
VOL. 4		136	160	133	136	121	116	98	87	46	41	19	20
VOL. 5		241	292	209	219	160	185	118	133	73	93	40	62
VOL. 6		214	199	166	155	142	135	110	104	67	54	47	26
$\bar{X} \pm SD$	P	191 ± 40.6		151 ± 34.4		131 ± 20.6		103 ± 9.1		52 ± 14.8		30 ± 12.9	
	D	208 ± 63.8		152 ± 35.6		141 ± 32.1		107 ± 25.6		55 ± 26.9		30 ± 20.6	

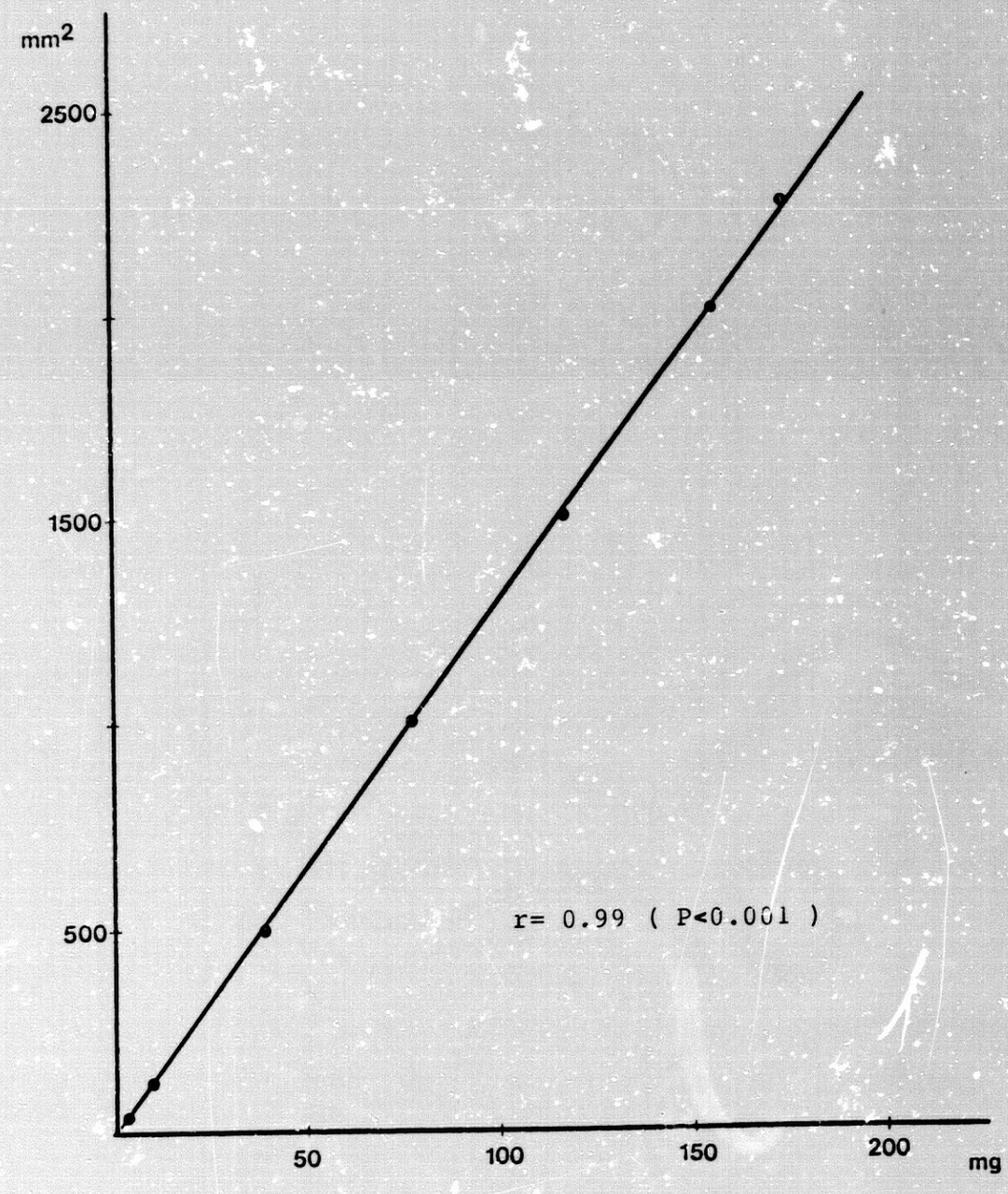
TABLA **15** AREAS DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE MORFINA A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION EN PRESENCIA DE PLACEBO(P) Y DE LAS DOSIS MULTIPLES DE DILTIAZEM(D).

DOSIS MCG/0.1 ML.	BUPRENORFINA											
	1.25		2.5		5		10		20		30	
	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.	CTRL.	NALOX.
VOL. 1	22	19	26	29	36	39	41	50	43	42	105	82
VOL. 2	40	32	44	41	54	51	69	50	68	59	125	120
VOL. 3	48	50	57	73	67	83	72	86	86	87	123	93
VOL. 4	30	29	42	57	45	57	62	57	65	65	74	104
VOL. 5	69	42	70	51	73	53	68	52	77	66	120	119
VOL. 6	35	28	40	36	56	51	67	51	69	59	115	109
$\bar{X}$	40.67	33.33	46.5	47.83	55.17	55.67	63.17	57.67	68	62.83	110.33	104.5
EE	7.35	4.93	6.79	7.12	6.10	6.56	5.07	6.32	6.45	6.54	8.58	6.66
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	-		-		-		-		-		-	
P <	N.S.		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.		N.S.	

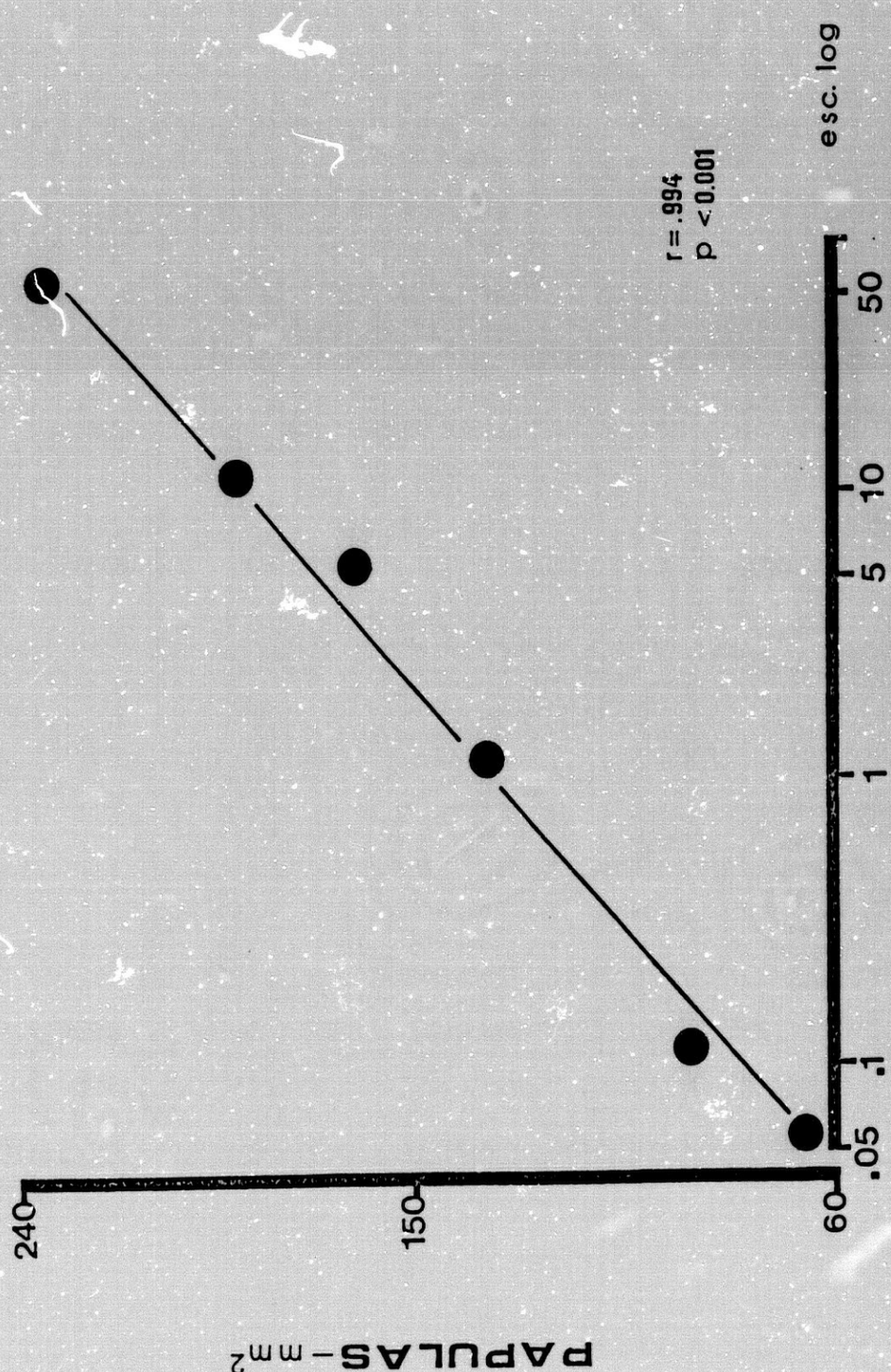
AREAS (MM^2) DE LAS PAPULAS INDUCIDAS POR LAS DIFERENTES DOSIS DE BUPRENORFINA A LOS 15 MINUTOS DE CADA INYECCION ANTES Y DESPUES DE LA ADMINISTRACION SUBCUTANEA DE 0.4 MG DE NALOXONA. TABLA 16

	BUPRENORFINA			
	R	P <	DE_{50}	$E_{MAX.}$
VOL. 1	0.97	0.01	1.4	44.9
VOL. 2	0.94	0.02	1.0	68.5
VOL. 3	0.97	0.01	0.9	81.6
VOL. 4	0.98	0.01	1.6	66.8
VOL. 5	-	-	-	-
VOL. 6	0.96	0.01	1.4	71.3
$\bar{X}$			1.26	66.6
EE			0.13	6.0

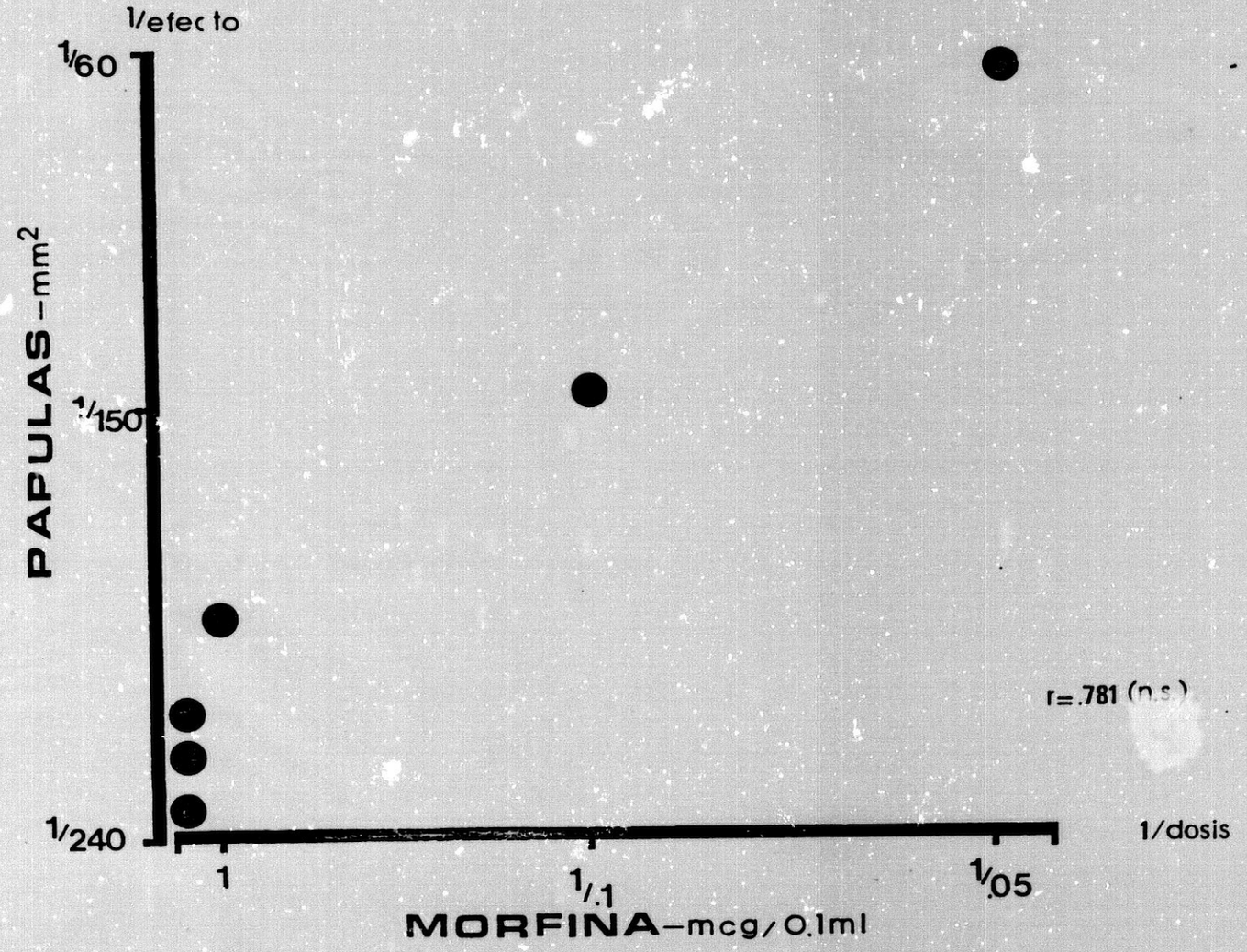
TABLA 17.- Coeficientes de correlación (r) y su significación estadística entre dosis de buprenorfina y sus efectos, asi como DE_{50} y $E_{max.}$ correspondientes.



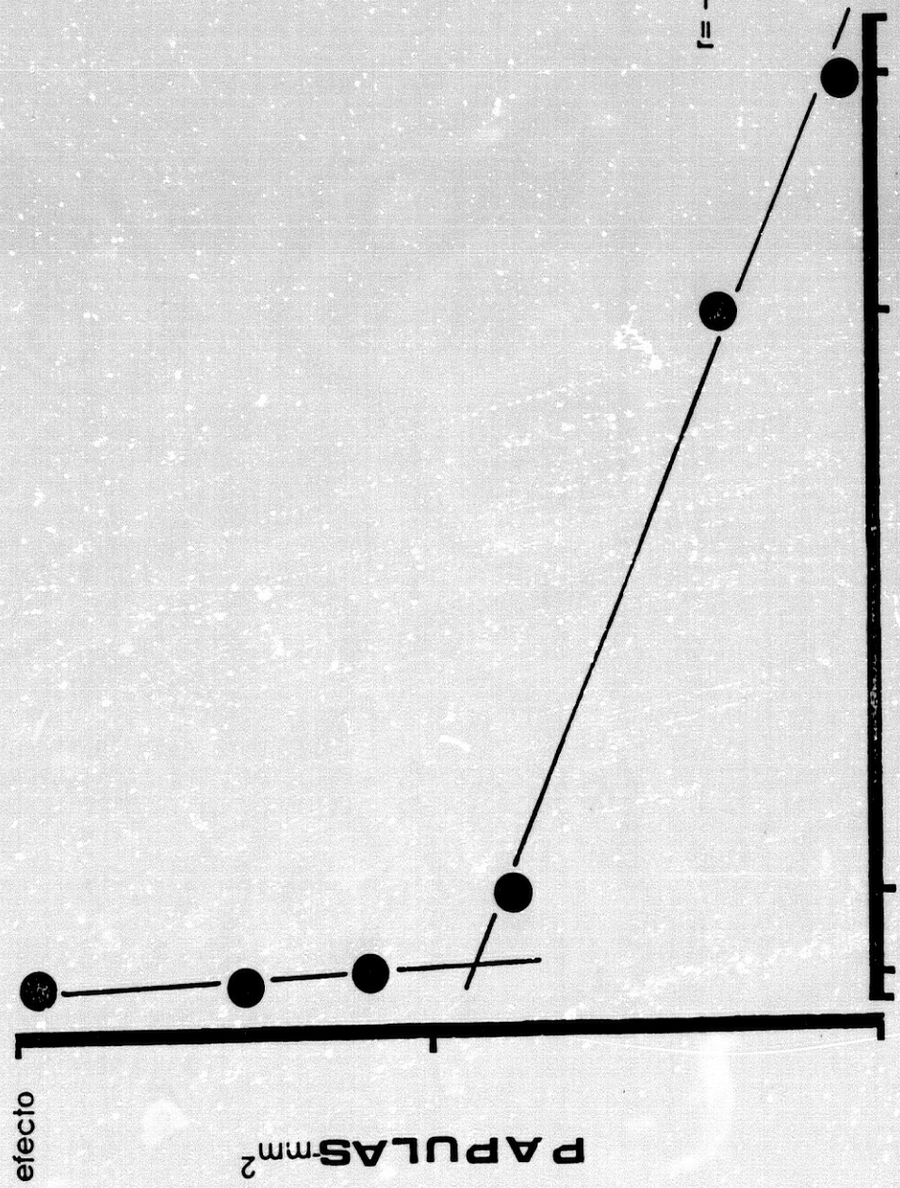
GRAFICA 1.- Recta de Regresión Peso-Superficie.


PAPULAS – mm²
240
150
60
.05
.1
1
5
10
50
MORFINA – mcg/0.1 ml
esc. log
r = .994
p < 0.001

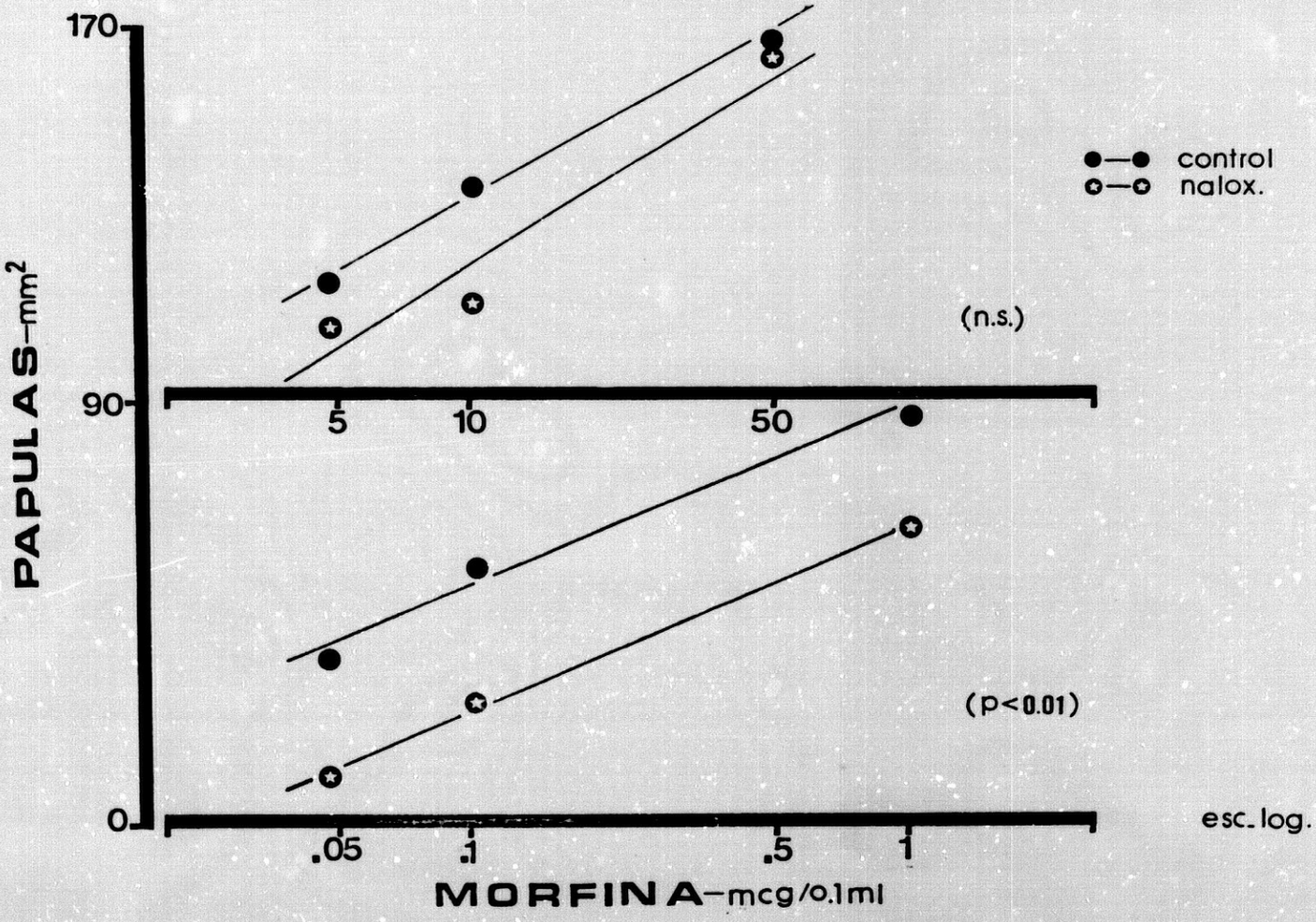
GRAFICA 2.-


1/efecto
1/60
1/150
1/240
PAPULAS – mm²
r=.781 (n.s.)
1/dosis
1
1/.1
1/05
MORFINA – mcg/0.1ml

GRAFICA 3 .-



GRAFICA 4.-


170
90
0
PAPULAS-mm²
5
10
50
.05
.1
.5
1
MORFINA-mcg/0.1ml
control
nalox.
(n.s.)
(p<0.01)
esc. log.

GRAFICA **5** .-

PAREJA 1= 2 135.6
PAREJA 2= 1 172.8
PAREJA 3= .5 143.9

GRAFICA **6**.-
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS HISTAMINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

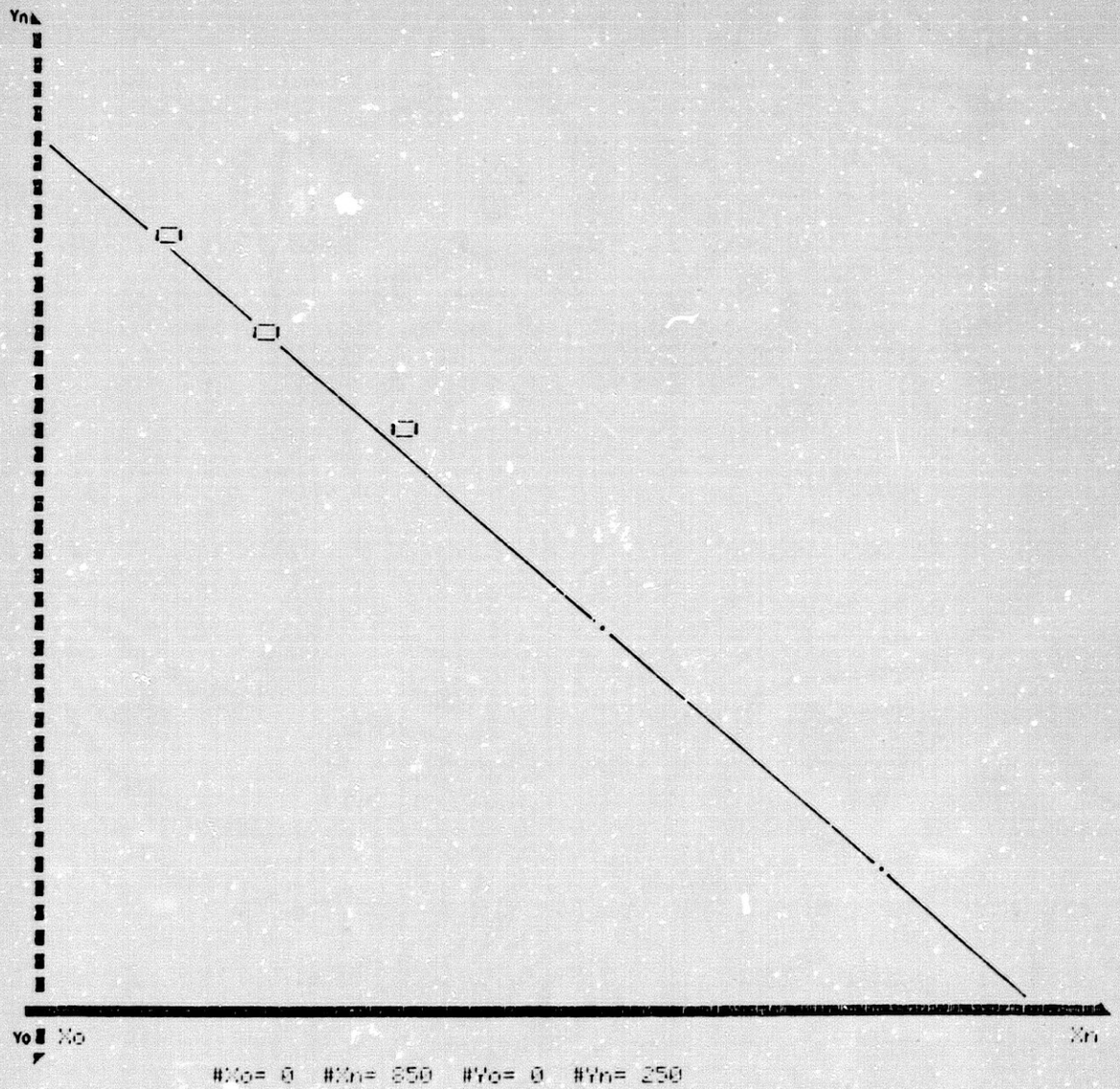
Coeficiente de Correlacion

r=-.998599109 (t exp.= 18.8723608) (1 g.l.)

Recta de Regresion

y= 221.090414 -.27036397 * x

(r= 3.75316574) (DE50= .27036397) (E.MAX= 221.090414)



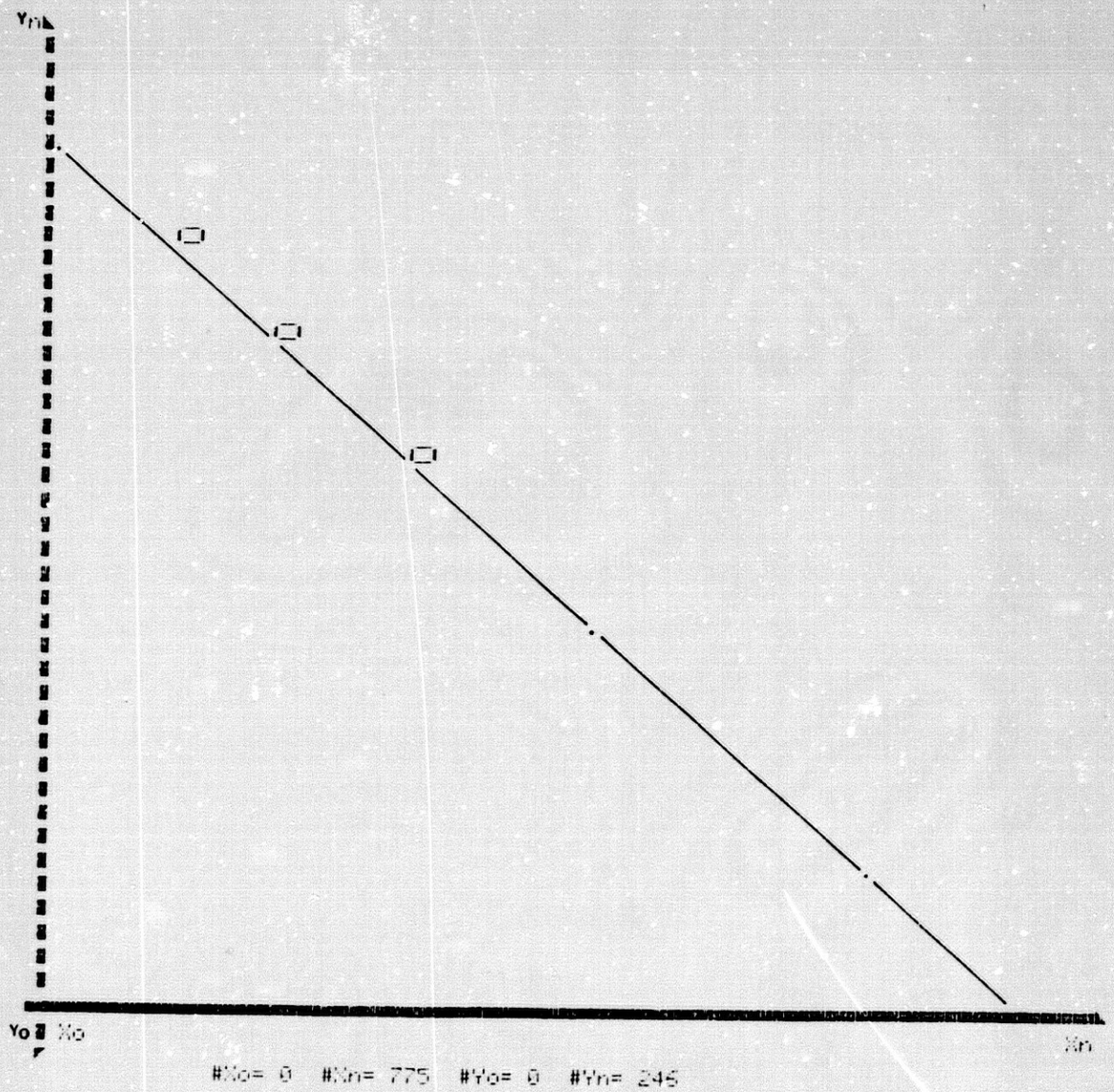
#Xo= 0 #Xn= 850 #Yo= 0 #Yn= 250

PAREJA 1= 2. 192.5
PAREJA 2= 1. 168.4
PAREJA 3= .5. 137.7

GRAFICA **7** , -
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS HISTAMINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-12).
SCATCHARD.

Coeficiente de correlacion:
r=-.999100405 (t exp.= 23.5596222) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 221.003847 -.304437628 * x
(Vm= 2.71335907) (DE50= .304437628) (E.MAX= 221.003847)



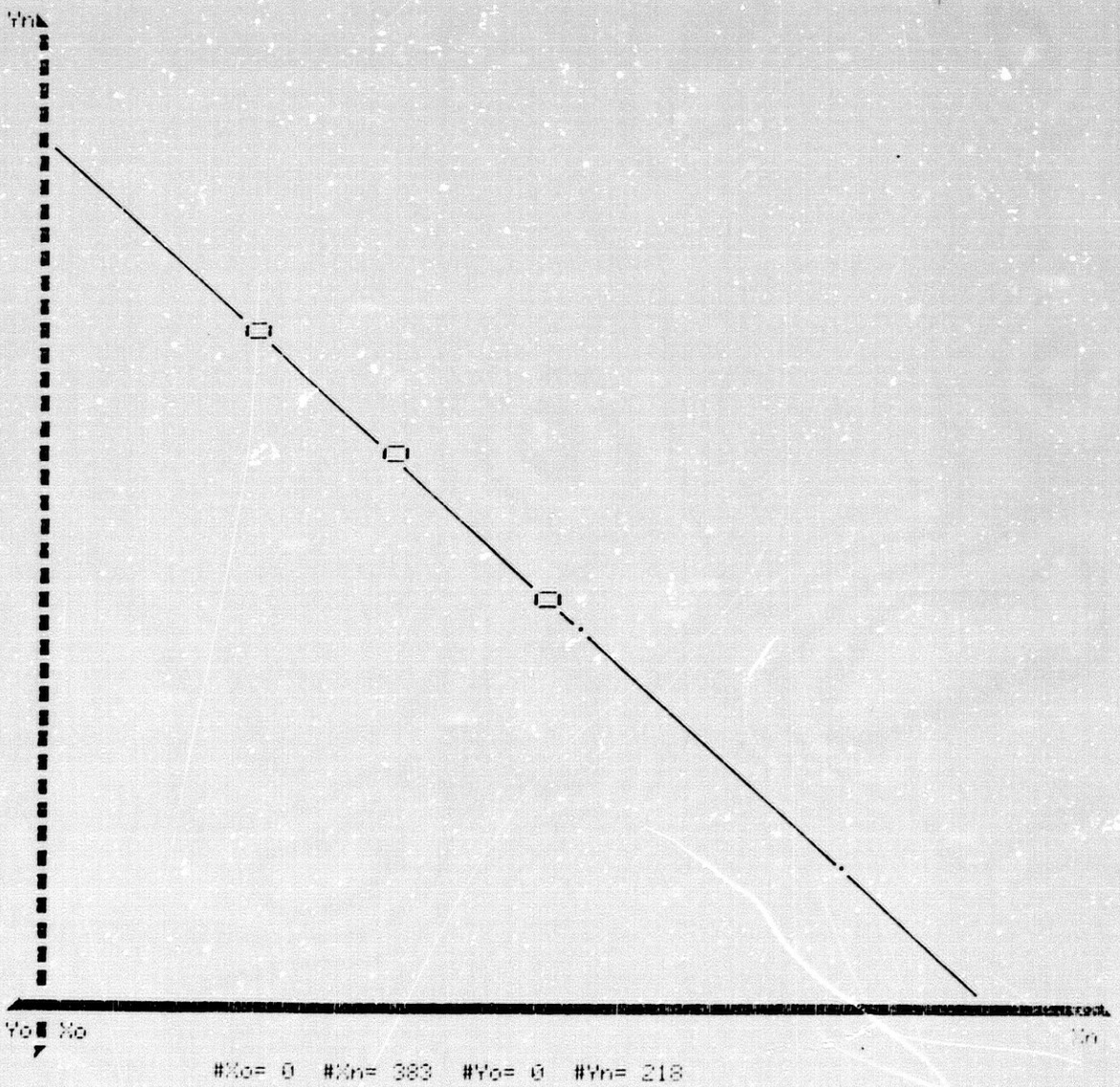
#Xo= 0 #Xm= 775 #Yo= 0 #Ym= 245

PAREJA 1= 2 151.5
PAREJA 2= 1 123.4
PAREJA 3= .5 91.5

GRAFICA **8**.-
SERIE CON ASTEMIZOL.
DOSIS HISTAMINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

Coeficiente de Correlacion:
r=-.999616602 (t exp.= 36.1023017) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 193.269982 -.558445492 * x
(vr= 1.38181242) (DE50= .558445492) (E.MAX= 193.269982)

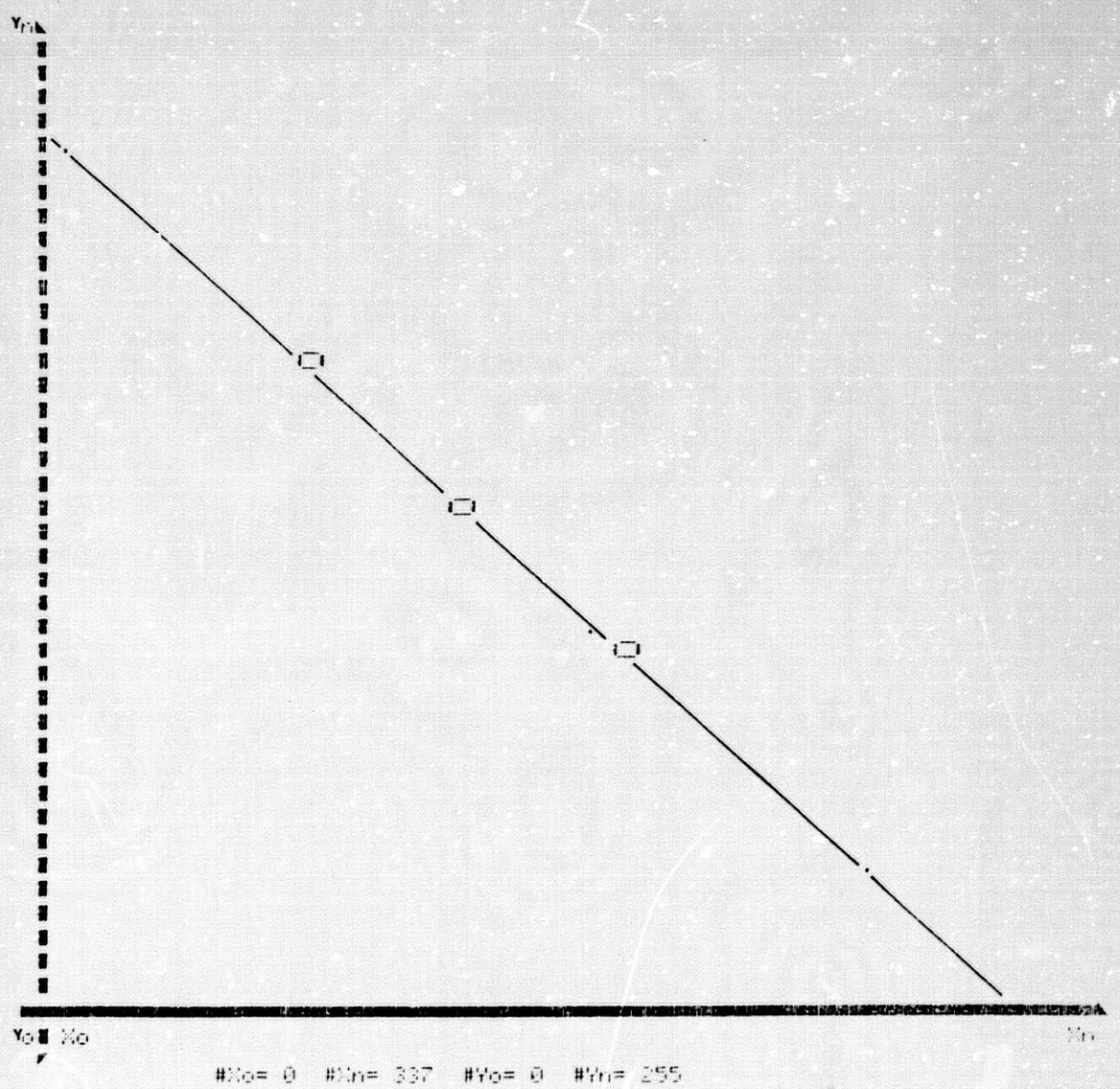


GRAFICA 9
SERIE CON OMATOMIDA.
DOSIS HISTAMINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-12).
SCATCHARD.

PAREJA 1= 2 168.9
PAREJA 2= 1 132.2
PAREJA 3= .5 93.5

Coeficiente de correlacion:
r=-.999703384 (t exp.= 41.0478814) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 230.365802 -.734540832 * x
(Vr= 1.68645396) (DE50= .734540832) (E.MAX= 230.365802)

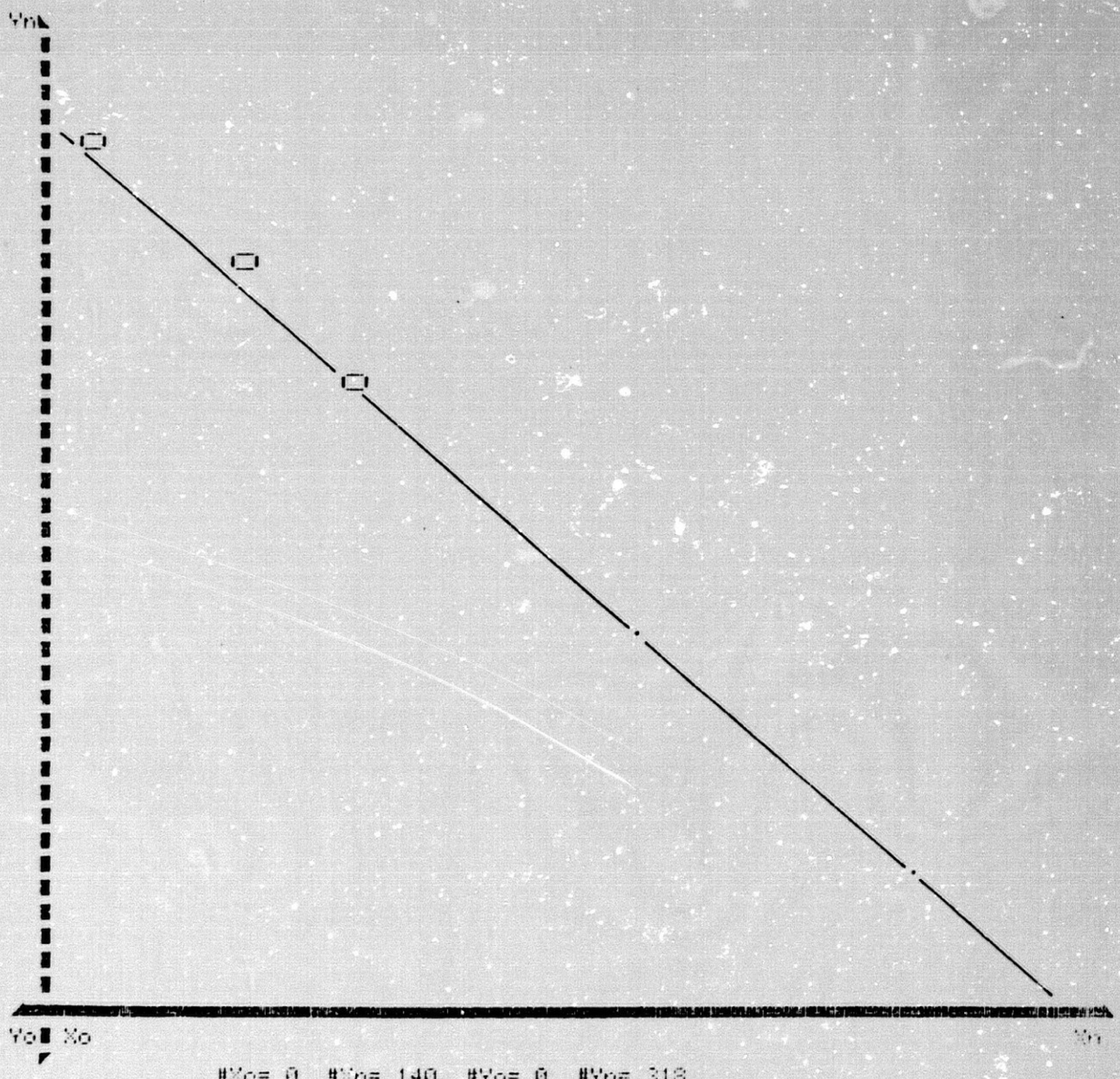


PAREJA 1= 50: 279.1
PAREJA 2= 10: 245.2
PAREJA 3= 5: 203.4

GRAFICA 10 -
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS ALTAS MORFINA-AREA PAPULAS
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

Coeficiente de Correlacion:
r=-.994403693 (t exp.= 9.41250983) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 293.208768 -2.14639744 * x
(Vm= 22.0959346) (DE50= 2.14639744) (E.MAX= 293.208768)



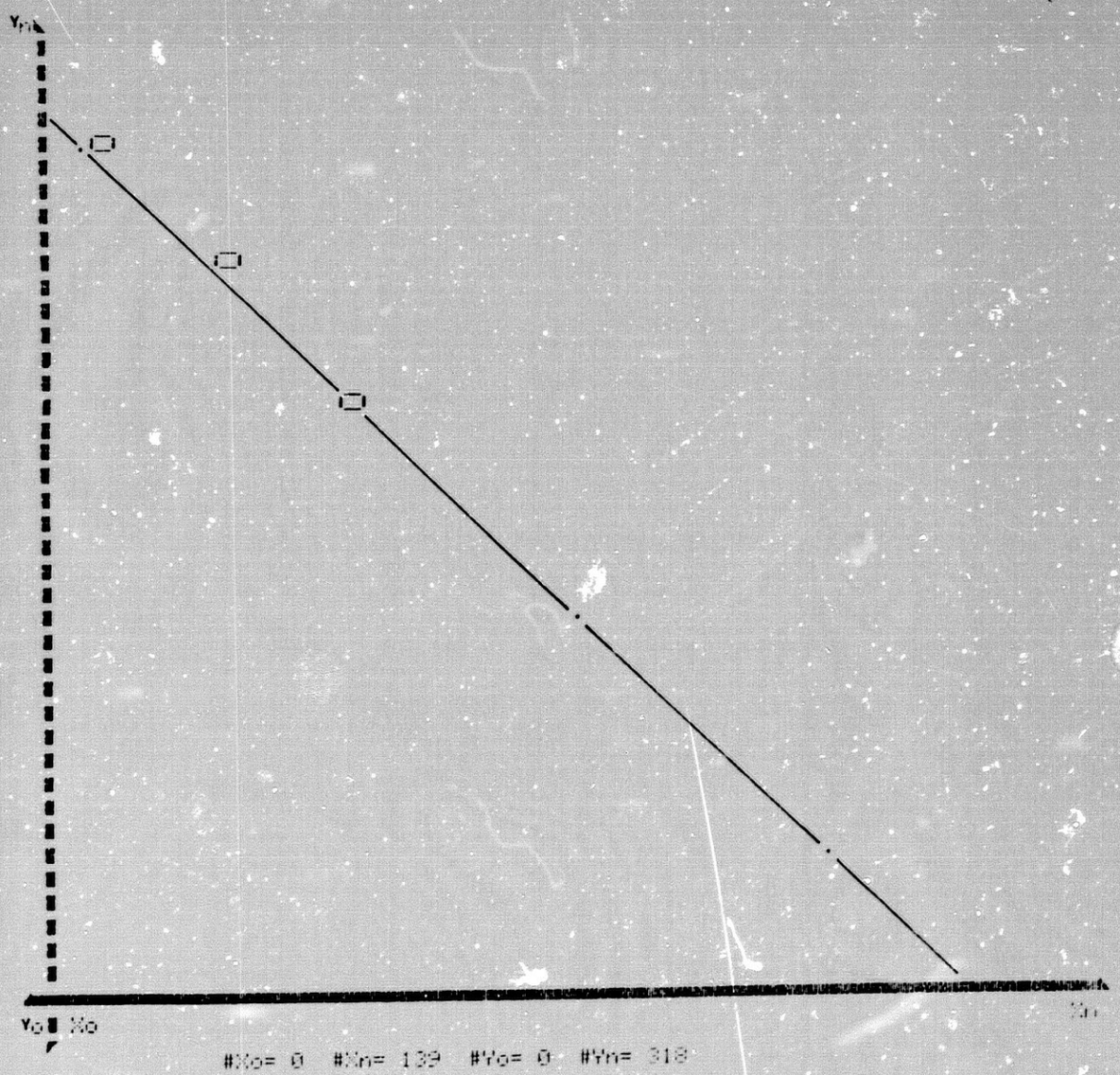
#Xo= 0 #Xm= 140 #Yo= 0 #Ym= 310

PAREJA 1= 50 278.9
PAREJA 2= 10 240
PAREJA 3= 5 197.2

GRAFICA 11 .-
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS ALTAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-12).
SCATCHARD.

Coeficiente de Correlacion:
r=-.996932 (t exp.= 12.7366803) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 293.986661 -2.40314096 * x
(ur= 20.4626738) (DE50= 2.40314096) (E.MAX= 293.986661)

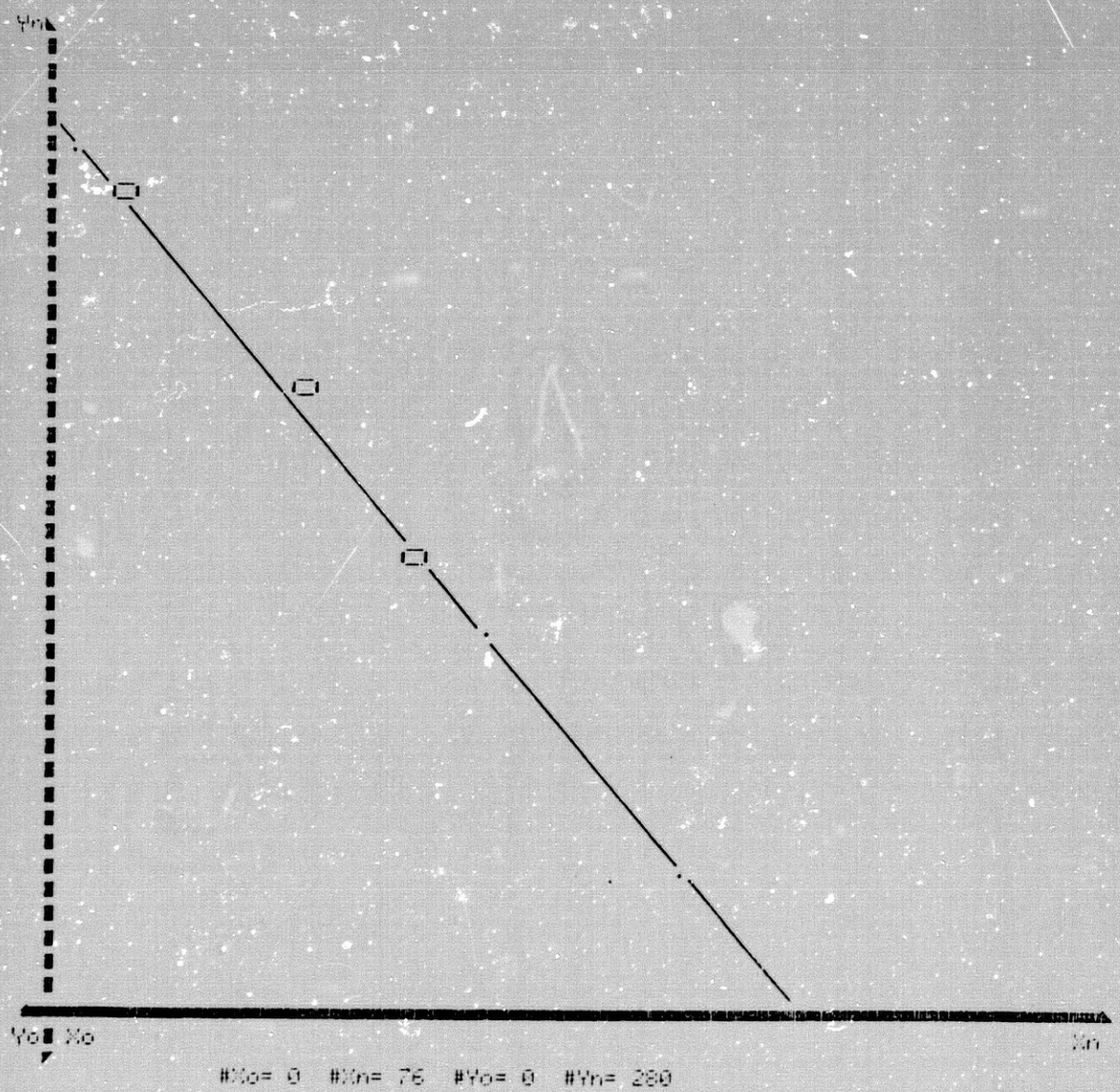


#Xo= 0 #Xn= 139 #Yo= 0 #Yn= 318

PAREJA 1= 50 200.2
PAREJA 2= 10 177
PAREJA 3= 5 130.9

Coef. de correlación:
r=-.997533626 (t exp.= 14.211864) (1 g.l.)

Recta de Regresión:
y = 255.463838 -4.6634967 * x
(Xm= 25.345943) (DE50= 4.6634967) (E.MAX= 255.463838)



GRAFICA 12 .-
SERIE CON ASTEMIZOL.
DOSIS ALTAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

PAREJA 1= 50: 217.7
PAREJA 2= 10: 142.7
PAREJA 3= 5: 94.2

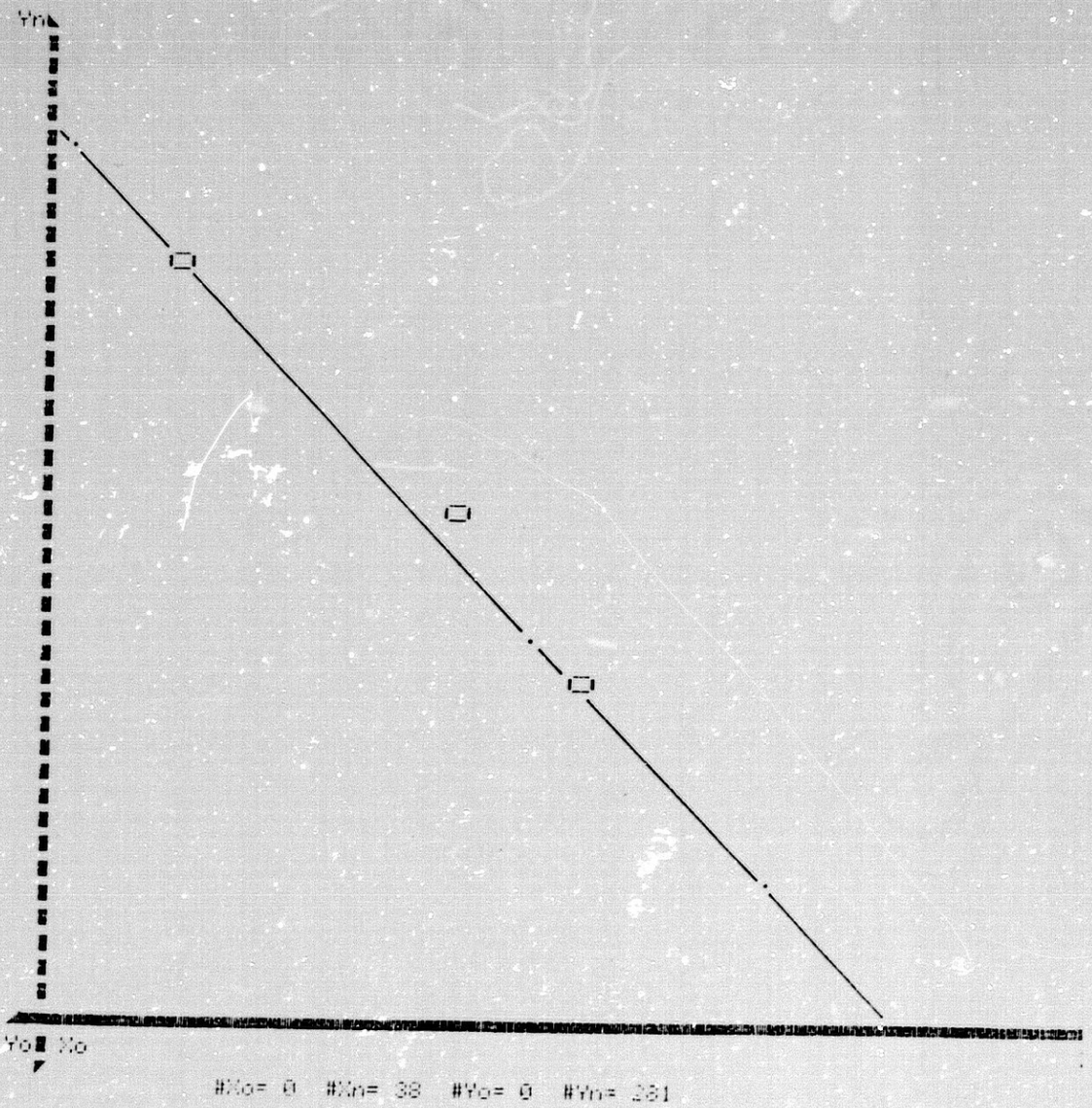
GRAFICA 13 -
SERIE CON OXATOMIDA.
DOSIS ALTAS MORFINA-AREA PAP
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-1
SCATCHARD.

[redacted]

r=-.996246279 (t exp.= 11.5087633) (1 g.l.)

[redacted]

Y = 256.064194 -8.37050452 * X
(Vm= 58.022264) (DE50= 8.37050452) (E.MAX= 256.064194)



#Xo= 0 #Xm= 38 #Yo= 0 #Ym= 281

PAREJA 1= 1 146.2
PAREJA 2= .1 85.3
PAREJA 3= .05 56.6

GRAFICA 14 .-
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS BAJAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

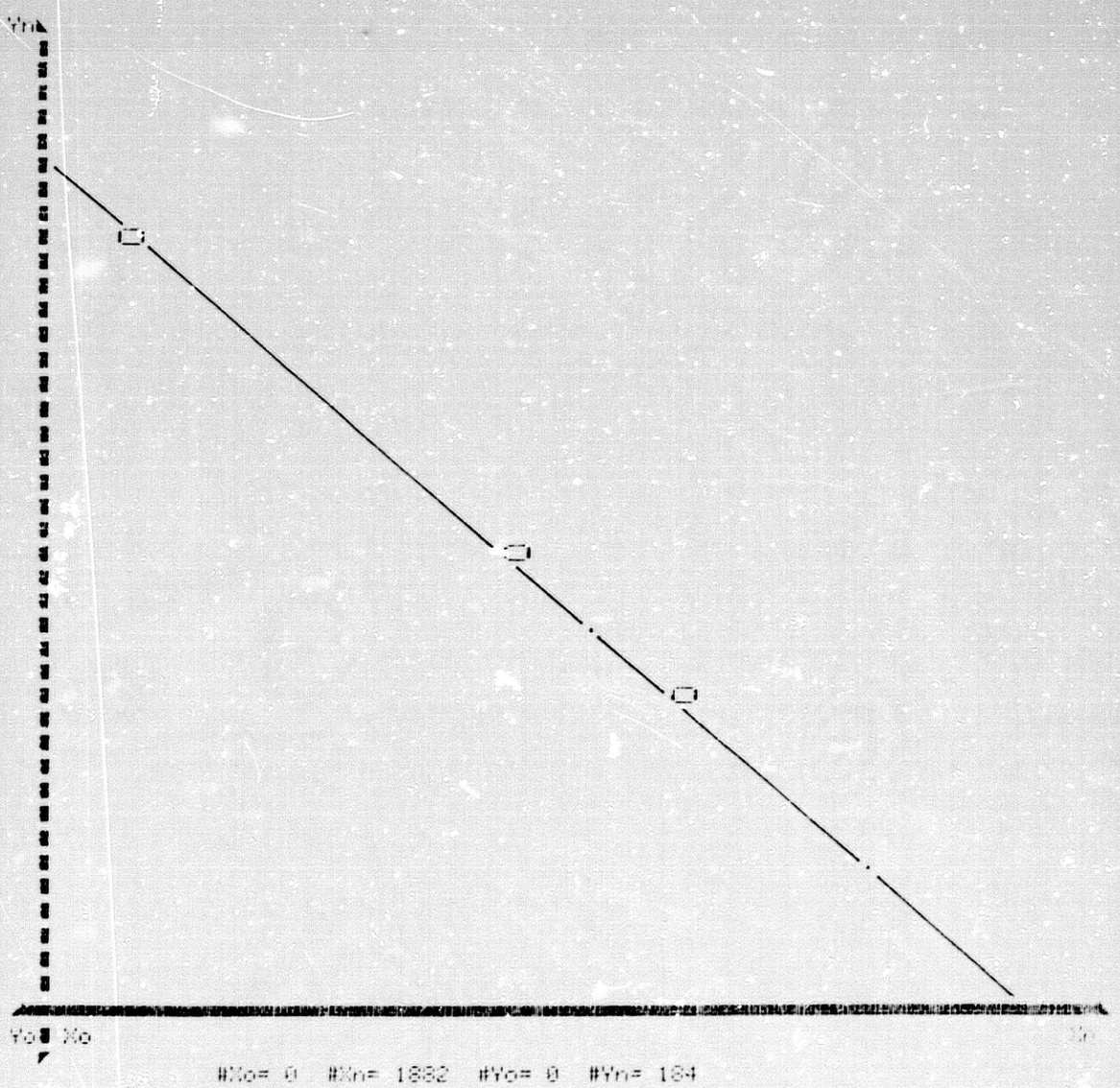
[redacted]

r=-.999163216 (t exp.= 24.429003) (1 g.l.)

[redacted]

y = 159.946543 -.0899679196 * x

(Vm= 7.00410234) (DE50= .0899679196) (E.MAX= 159.946543)

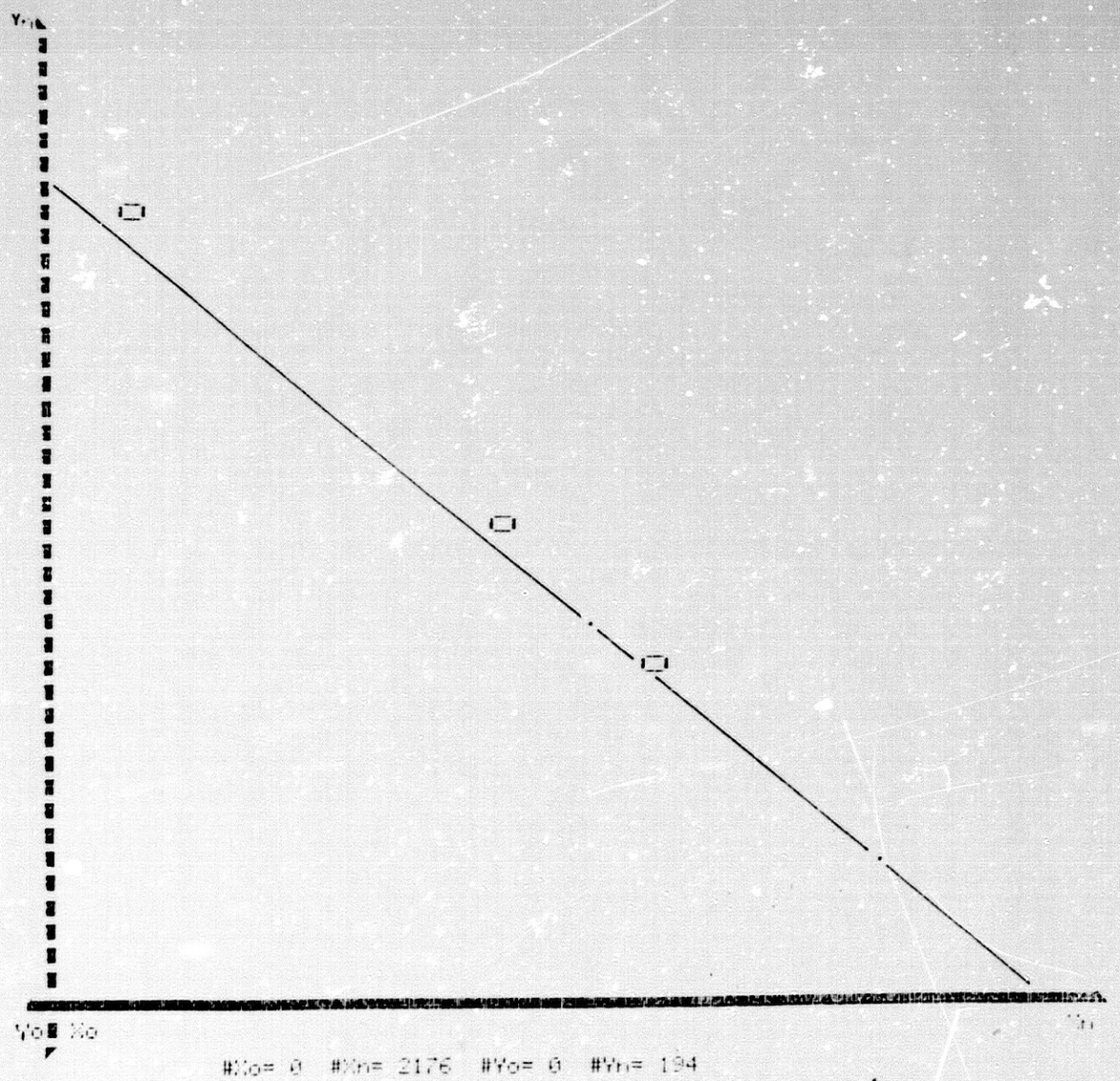


PAREJA 1= 1 155.9
PAREJA 2= .1 94.6
PAREJA 3= .05 63.8

Coeficiente de Correlacion:
r=-.999034874 (t exp.= 22.74460961 (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y= 169.268232 -.081376297 *
(Vm= 8.481761061 (DE50= .081376297) (E.MAX= 169.268232)

GRAFICA 15 .-
SERIE CON PLACEBO.
DOSIS BAJAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-12).
SCATCHARD.



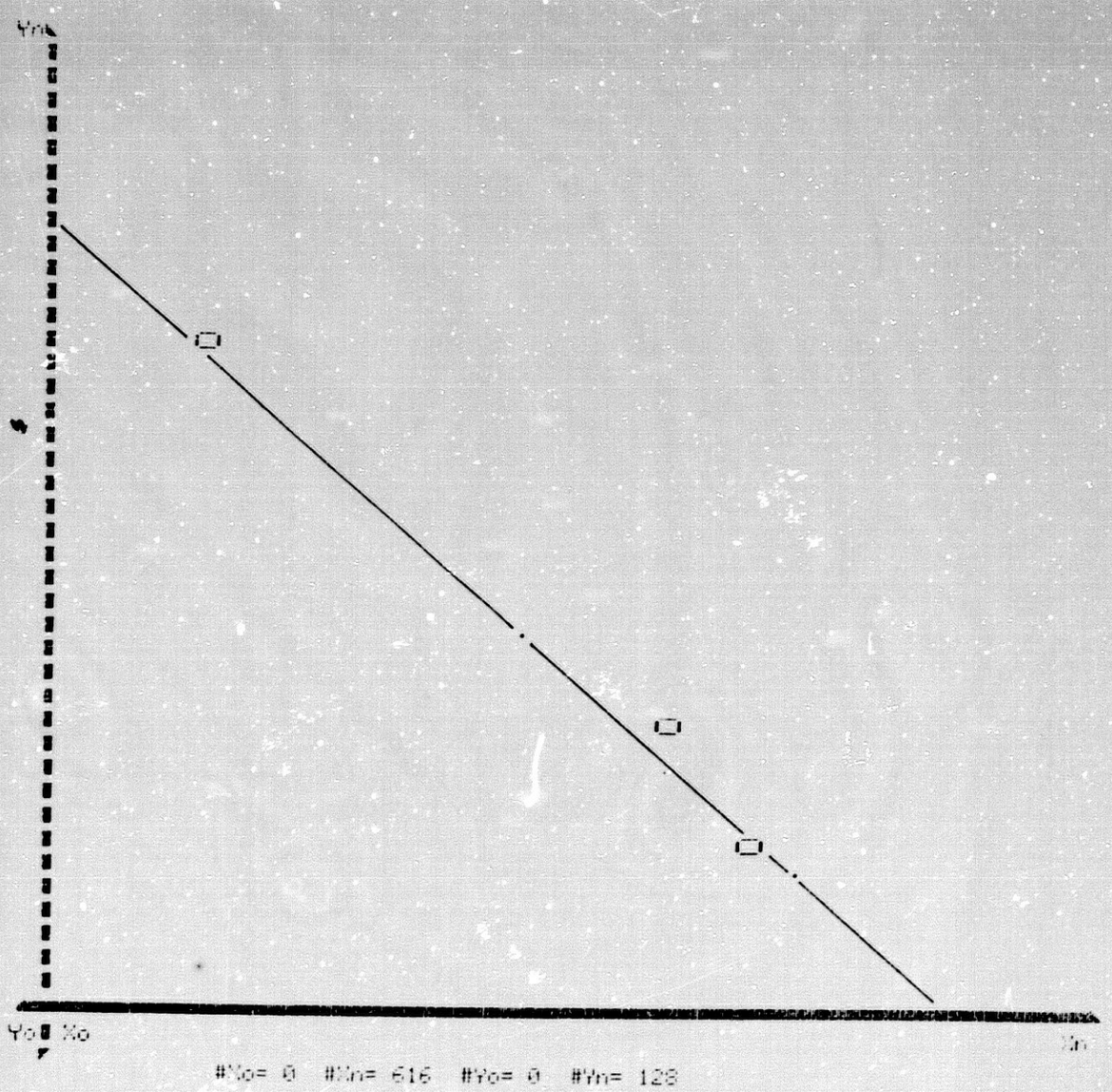
#Xo= 0 #Xn= 2176 #Yo= 0 #Yn= 194

GRAFICA 16 .-
SERIE CON ASTEMIZOL.
DOSIS BAJAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (1-6).
SCATCHARD.

PAREJA 1= 1 86.5
PAREJA 2= .1 36.7
PAREJA 3= .05 20.8

Coeficiente de Correlacion:
r=-.995412469 (t exp.= 10.4039256) (1 g.l.)

Recta de Regresion:
y = 103.622115 -.191910689 * x
(Vm= 21.5099216) (DE50= .191910689) (E.MAX= 103.622115)



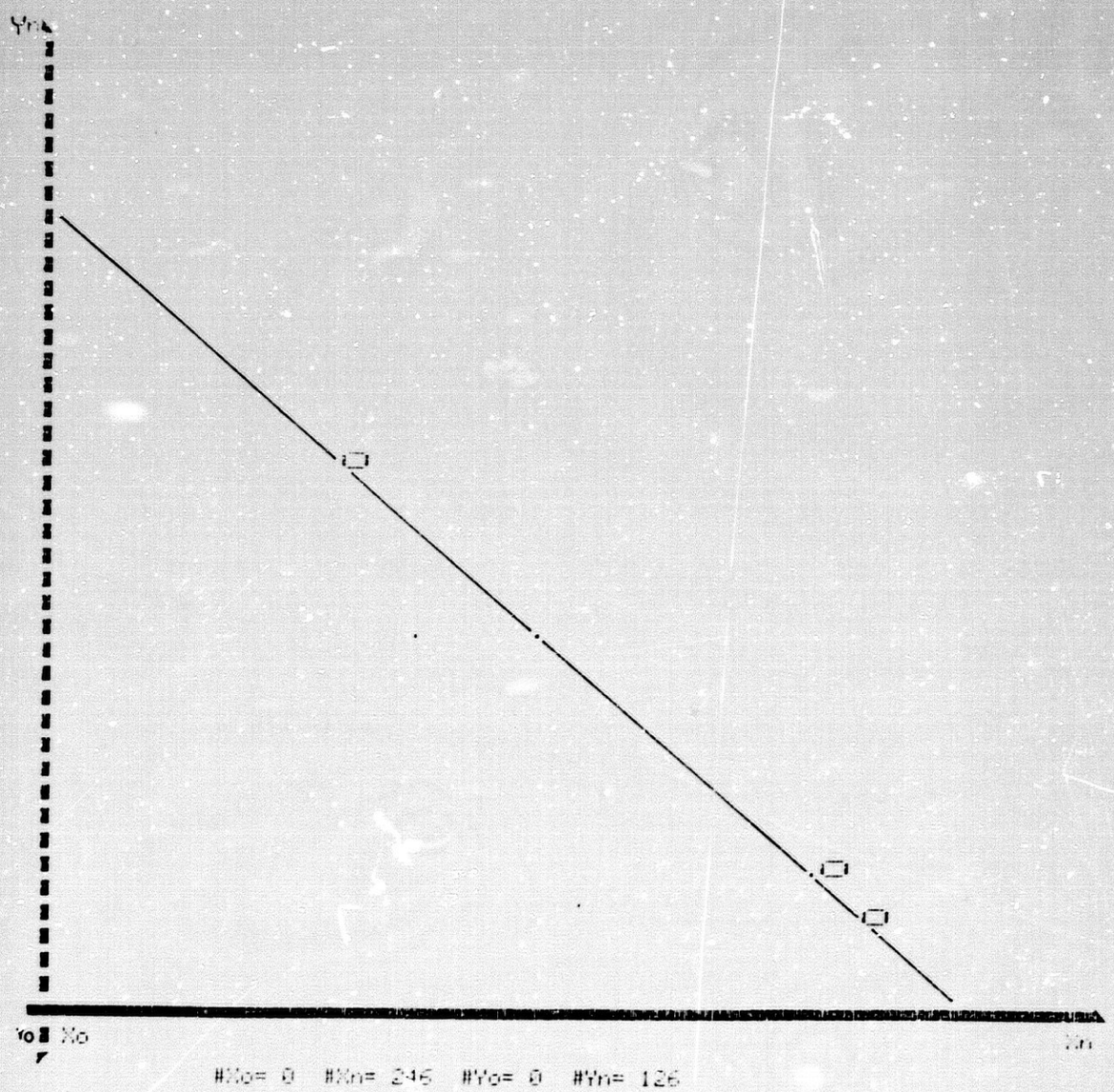
#Xo= 0 #Xm= 616 #Yo= 0 #Ym= 128

PAREJA 1= 1 62.6
PAREJA 2= .1 18.5
PAREJA 3= .05 8.8

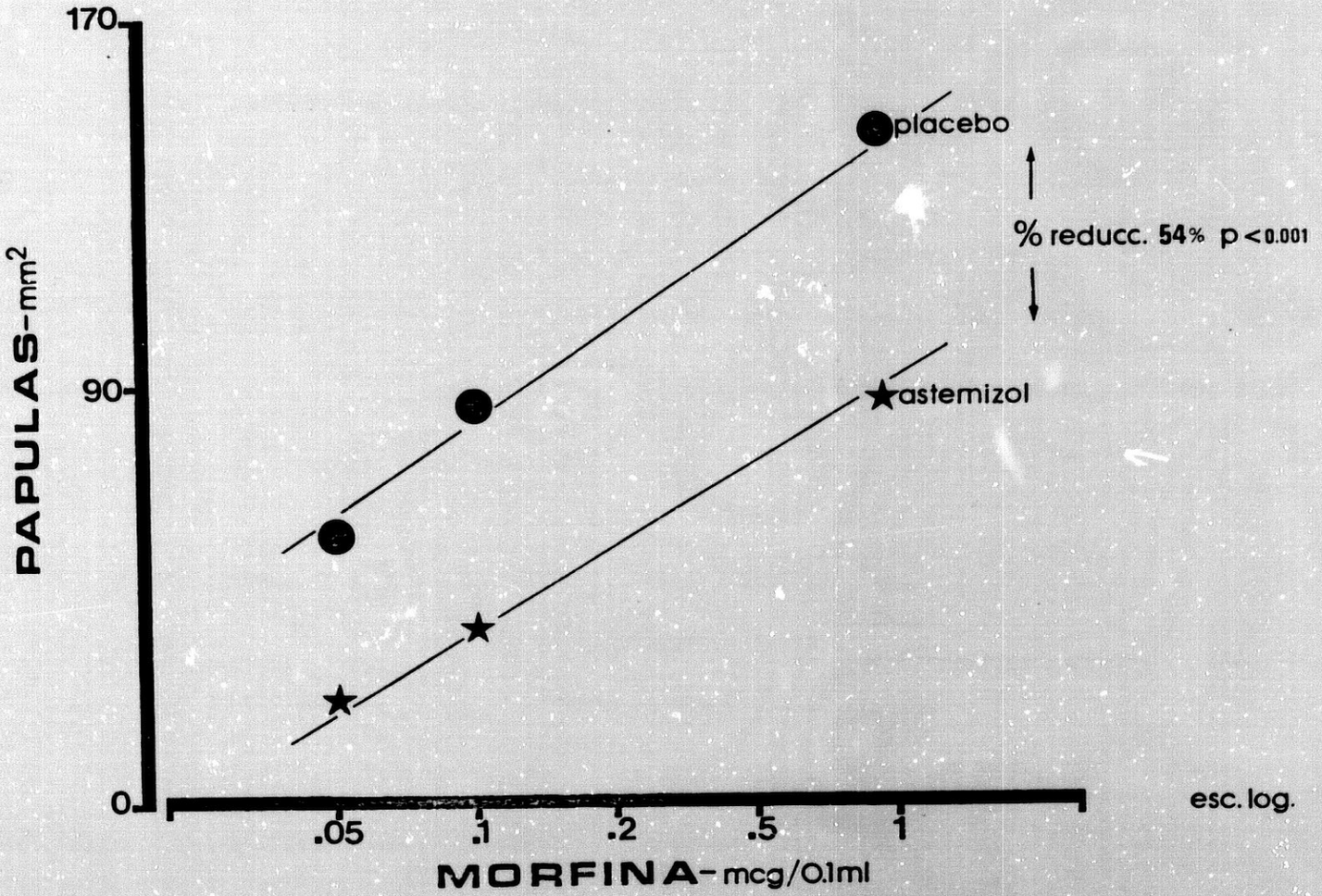
GRAFICA 17 .-
SERIE CON OXATOMIDA.
DOSIS BAJAS MORFINA-AREA PAPULAS.
MEDIA ARIT. VOLUNTARIOS (7-12).
SCATCHARD.

Coeficiente de correlación:
r=-.998408903 (t exp.= 17.7058954) (1 g.l.)

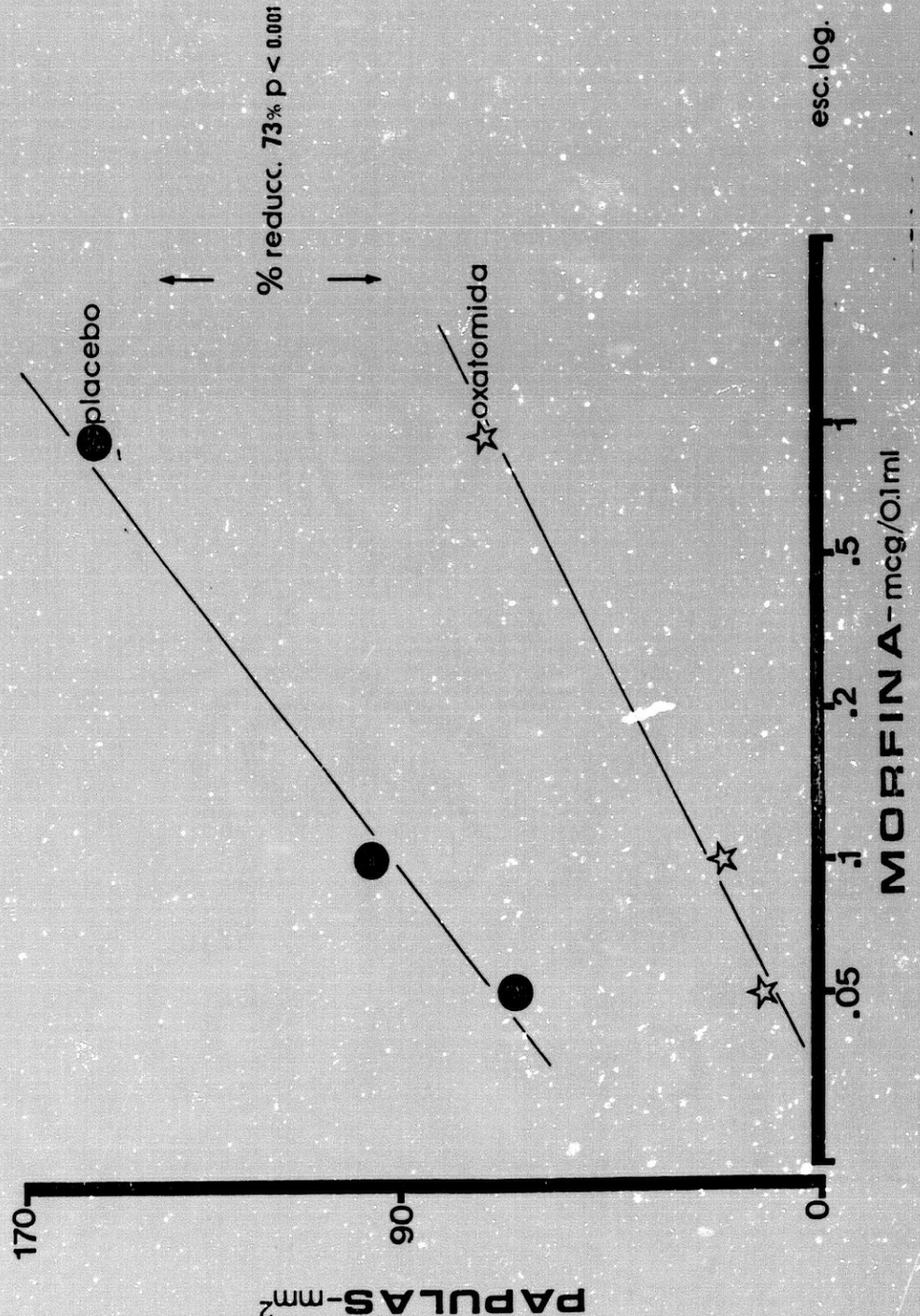
Recta de regresión:
y = 101.829525 -.460693685 * x
(Vm= 6.63800946) (DE50= .460693685) (E.MAX= 101.829525)



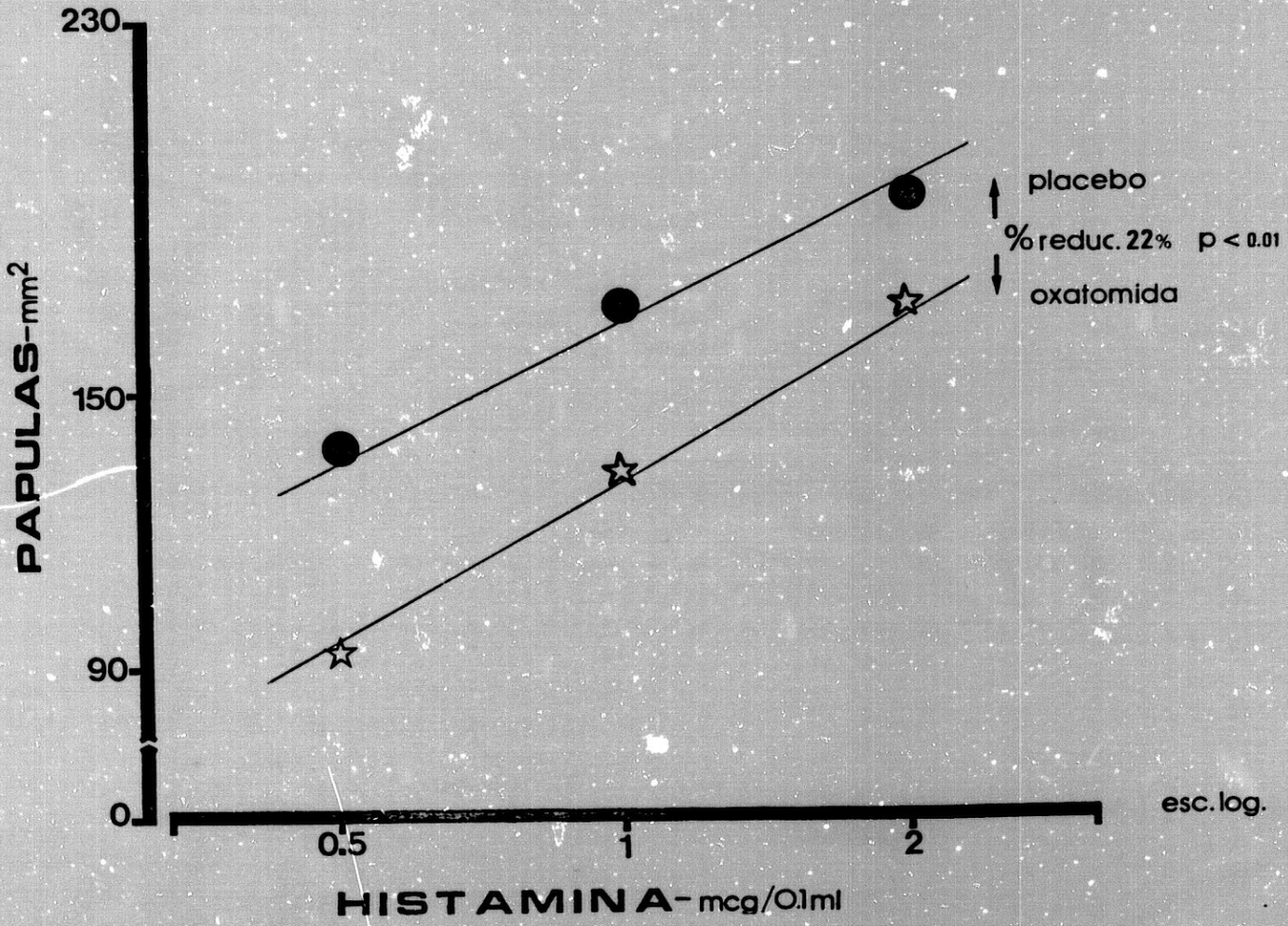
#Xo= 0 #Xn= 245 #Yo= 0 #Yn= 126


170
90
0
PAPULAS-mm²
placebo
% reducc. 54% p < 0.001
astemizol
.05
.1
.2
.5
1
MORFINA- mcg/0.1ml
esc. log.

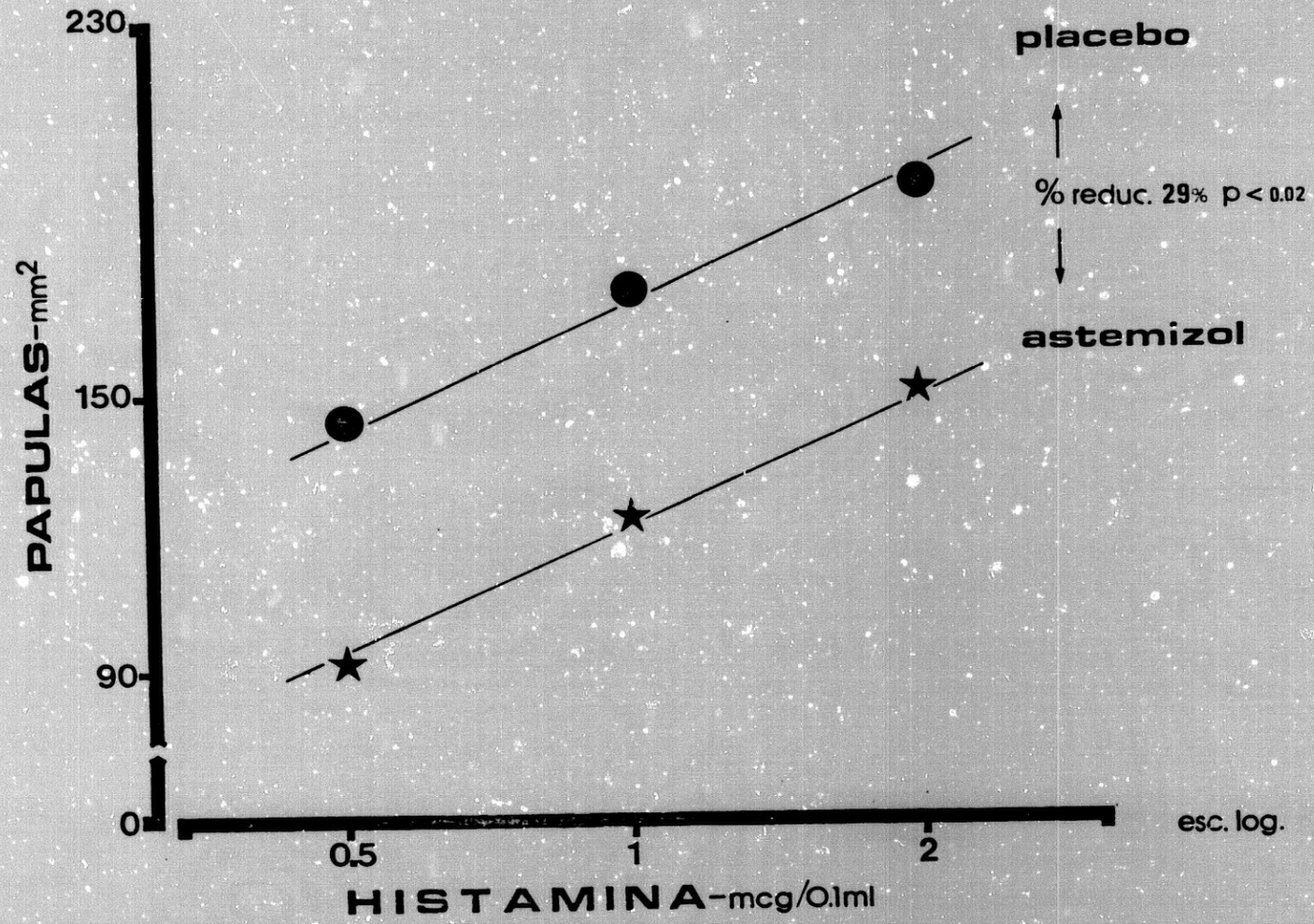
GRAFICA **18** .-


170
90
0
PAPULAS-mm²
placebo
oxatomida
% reducc. 73% p < 0.001
.05
.1
.2
.5
1
esc. log.
MORFINA-mcg/0.1ml

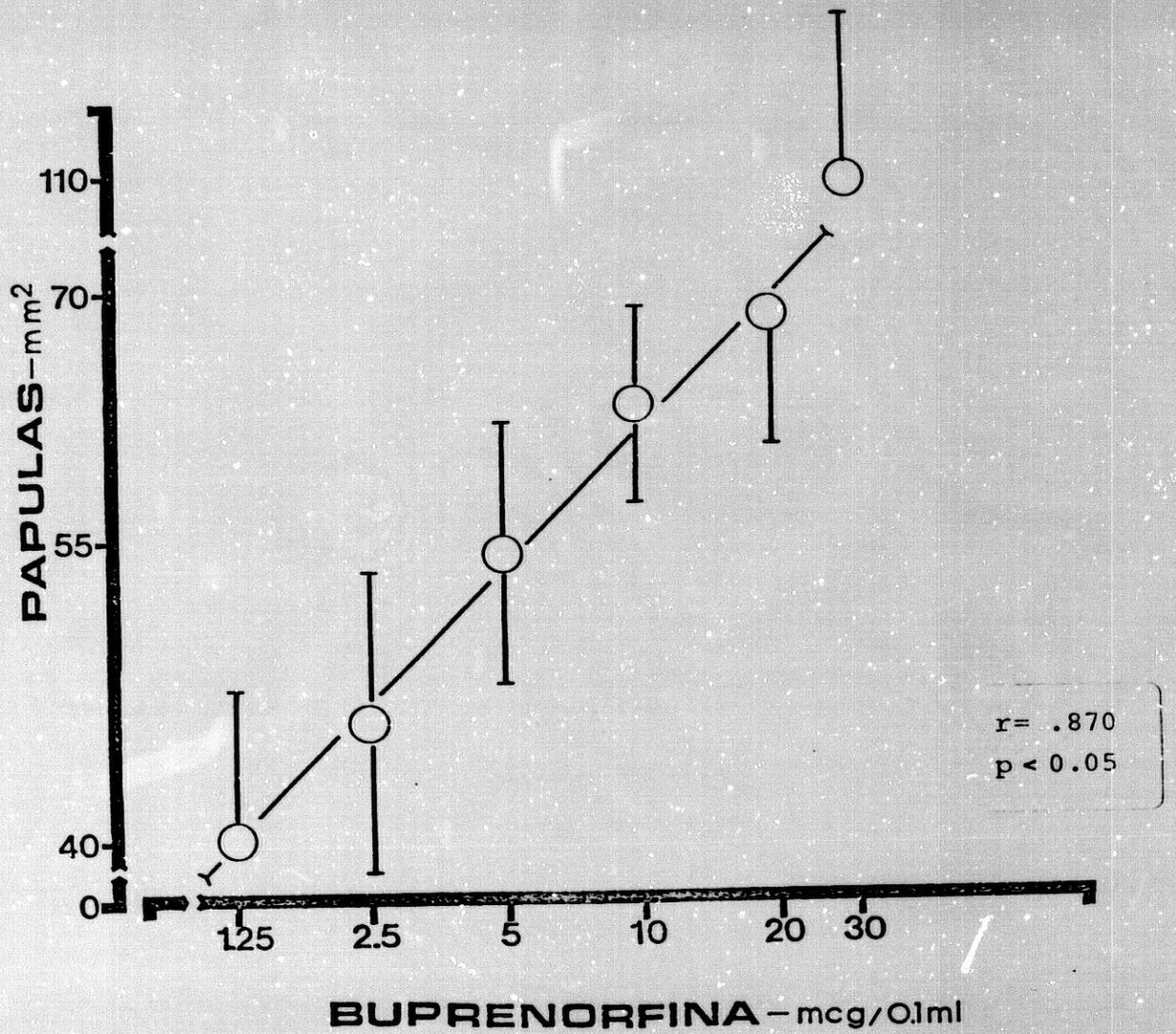
GRAFICA 19.-


230
150
90
0
PAPULAS-mm²
placebo
% reduc. 22% p < 0.01
oxatomida
0.5
1
2
esc. log.
HISTAMINA- mcg/0.1ml

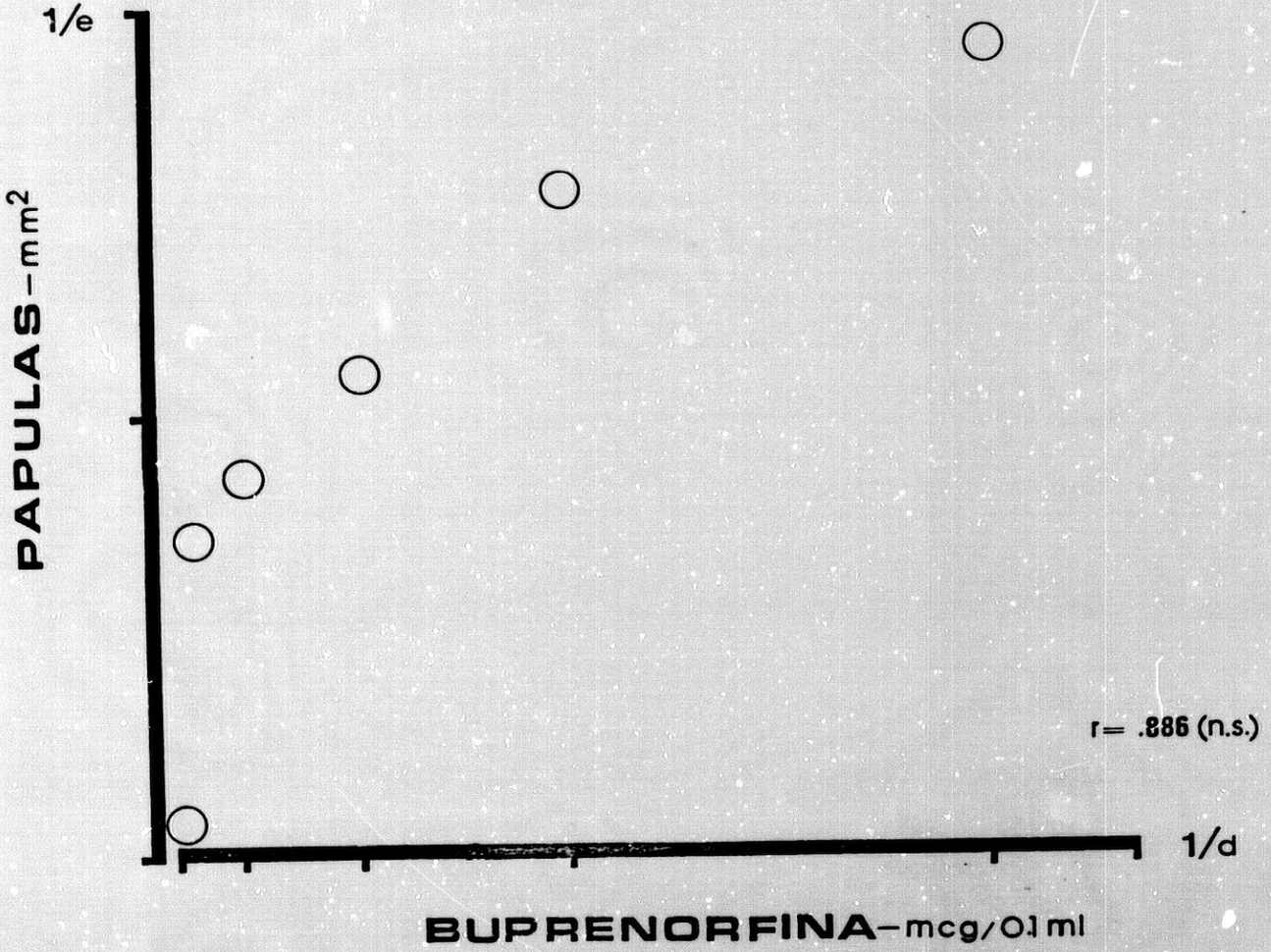
GRAFICA 20.-


230
150
90
0
PAPULAS-mm²
placebo
% reduc. 29% p < 0.02
astemizol
0.5
1
2
esc. log.
HISTAMINA-mcg/0.1ml

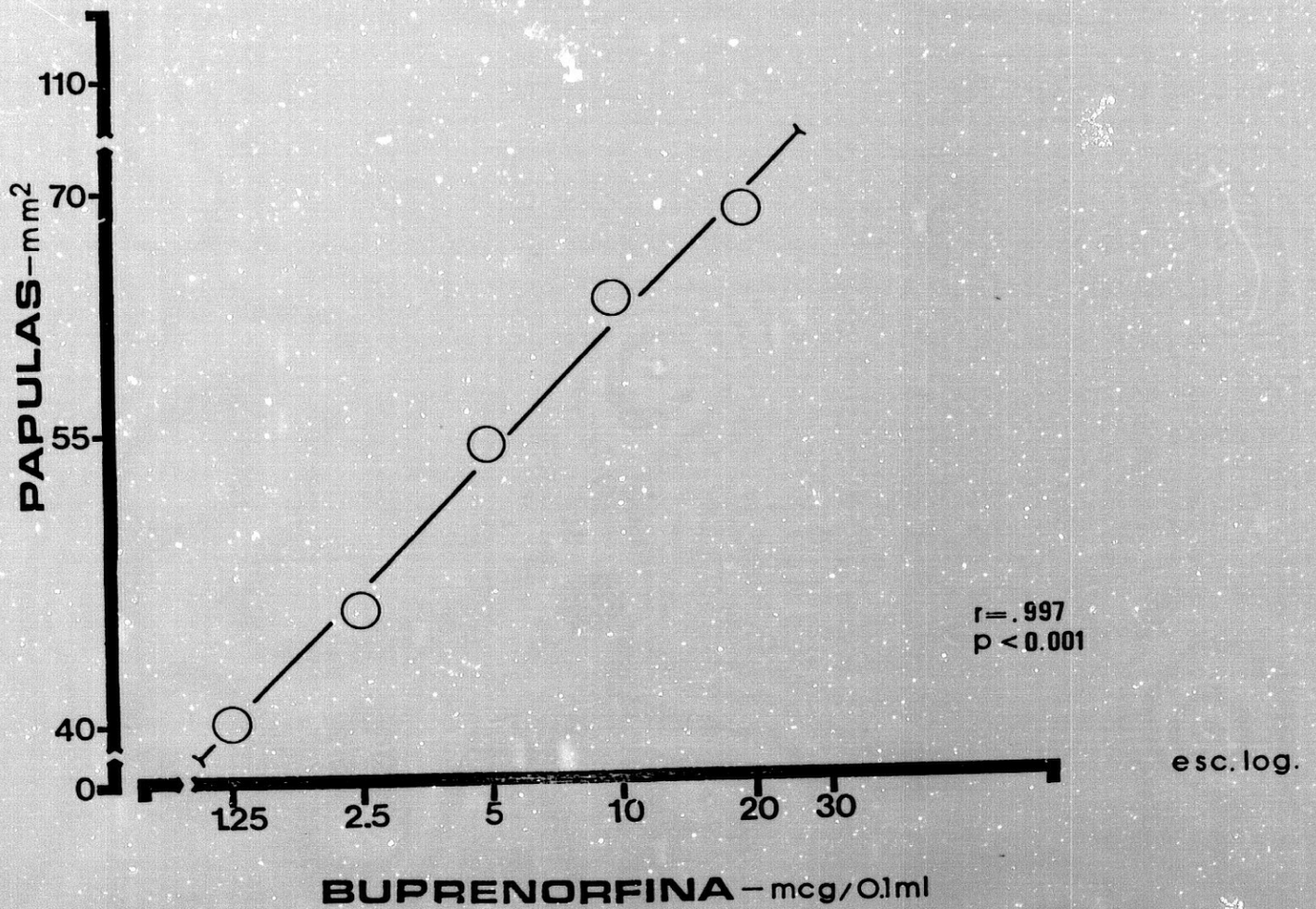
GRAFICA **21** .-


PAPULAS – mm²
110
70
55
40
0
1.25
2.5
5
10
20
30
BUPRENORFINA – mcg/0.1ml
r= .870
p < 0.05
esc. log.

GRAFICA **22**.-



GRAFICA **23**.-


110
70
55
40
0
PAPULAS – mm²
1.25
2.5
5
10
20
30
BUPRENORFINA – mcg/0.1ml
r = .997
p < 0.001
esc. log.

GRAFICA **24** .-

BIBLIOGRAFIA

REFERENCIAS

1. Abood, L.G.; Atkinson, H.G.; Macneil. M.: Stereospecific opiate binding in human erytrocyte membranes and changes in heroin addicts. J. Neurosci. Res., 2, 427-431 (1976).

2. Adachi, K.; Halprin, M.; Takeda, J. et al: Epidermal surface receptors with link pharmacological mediators to the adenylate cyclase system. Br. J. Dermatol., 107, (23), 111-118 (1982).

3. Akcasu, A.; Unna, K.R.: The role of mast cell disruption in the acute manifestations of the intravenous injection of morphine in dogs. Eur. J. Pharmacol., 13, 103-107 (1970).

4. Alderman, E.L.; Barry, W.H.; Graham, A.F. et al: Hemodynamic effects of morphine and pentazocine differ in cardiac patients. New Engl. J. Med., 287, 623-627 (1972).

5. Alm, P.E.: Sodium fluoride evoked histamine release from mast cells. A study of clinic AMP levels. Agents actions, 13(2-3), 132-137 (1983).

6. Andersen, N.H.; Ramwell, P.W.: Biological aspect of prostaglandings. Arch. Intern. Med., 133, 30-50 (1974).

7. Antonio, R.P.; Philbin, D.M.; Savarese, J.J.: Comparative hemodynamic effects of D-Tubocurarine and Metocurine in the dog. Br.

J. Anesth., 51, 1007-1010 (1979).

8. Archer, G.T.: Release of heparin from the mast cells of the rat. Nature, 191, 90-101 (1961).

9. Asboe Hansen, G.: The mast cell in health and disease. Acta Dermato-Venerol., 73, 139-148 (1973).

10. Ash, A.S.F.; Schild, H.O.: Receptors mediating some actions of histamine. Br. J. Pharmacol., 27, 427-439 (1966).

11. Assem, E.S.F.; Schild, H.O.: Antagonism by beta-adrenoceptor blocking agents of the antianaphylactic effect of isoprenaline. Br. J. Pharmacol., 42, 620-630 (1971).

12. Assem, E.S.K.; Pickup, P.M.; Schild, H.O.: The inhibition of allergic reactions by simpathomimetic amines and methylxanthines. Br. J. Pharmac., 39, 212-213 (1970).

13. Assem, E.S.K.; Schild, H.O.: Inhibition by simpathomimetic amines of histamine release induced by antigen in passively sensitized human lung. Nature, Lond., 224, 1028-1029 (1969).

14. Assem, E.S.K.; Schild, H.O.: Inhibition of the anaphylactic mechanism by sympathomimetic amines. Int. Archs. Allergy Appl. Immun., 40, 576-589 (1971).

15. Atkinson, G.; Ennis, M.; Pearce, F.L.: The effect of alkaline earth cations on the release of histamine from rat peritoneal mast cells treated with compound 48/80 and peptide 401. Br. J. Pharmacol., 65, 395-402 (1979).

16. Avila, J.L.; Convit, J.: Physicochemical characteristics of the glycosaminoglycan-lysosomal enzyme interaction in vitro: A model of control of leukocytic lysosomal enzyme activity. Biochem. J., 160, 129-136 (1976).

17. Awouters, F.; Niemegeers, C.J.E.; Janssen, P.A.J.: Inhibitors of mast cell-mediated shock in the rat: relationship to histamine and serotonin antagonism. Drug Develop. Res., 1, 107-114 (1981).

18. Awouters, F.; Borgers, M.; De Clerck, F. et al: Oxatomide: Comparative experimental studies with other anti-allergic agents. Int. J. Tiss. React., 1(3-4), 95-101 (1979).

19. Awouters, F.H.L.; Niemegeers, C.J.E.; Janssen, P.A.J.: Pharmacology of the specific histamine H_1-antagonist astemizole: Arzneimittel-Forschung, 33, 381-388 (1983).

20. Bateman, D.N.; Chapman, P.H.; Rawlins, M.D.: Effects of astemizole on histamine-induced weal and flare. Europ. J. Clin. Pharmacol., 25, 547-551 (1983).

21. Baxter, J.H.; Adamik, R.: Differences in requeriment and actions of various histamine-releasing agents. Biochem. Pharmacol., 27, 497-503 (1978).

22. Beaven, M.A.: Histamine: Its role in physiological and pathological processes. Monogr. Allergy, 13 1-114 (1978).

23. Beaven, M.A.; Shaff, R.E.: New inhibitors of histamine N-Methyl transferase. Biochem. Pharmacol., 28, 183-188 (1979).

24. Beaven, M.A.; Jacobsen, S.; Horakova, Z.: Modification of the enzymatic isctopic assay of histamine and its application to measurements of histamine in tissues, serum and urine. Clin. Chim. Acta, 37, 91-103 (1972).

25. Beaven, M.A.; Horakova, Z.: The enzymatic isotopic assay of histamine. Handbook of Experimental Pharmacology, 18, 151-173 (1978).

26. Benyon, R.C. et al: The effect of Methyltransferase inhibitors on Histamine release from human dispersed lung mast cells activated with anti-human ige and calcium ionophore A23187. Biochem. Pharmacol., 33(18), 2881-2886 (1984).

27. Bereziat, G.: Les prostaglandines et les Thromboxanes. Point actual. Rev. Prat., 31, 3227-3240 (1981).

28. Berqvist, U.; Samuelsson, G.; Uvnas, B.: Chemical composition of basophil granules from isolated rat mast cells. Acta Physiol. Scand., 83, 362-372 (1971).

29. Berther, T.; Conroy, M.C.; De Weck, A.L.: Urtikarielle quaddelreaktion der haut auf codein, ein mass der mastzellenreaktivitat. Schweiz. Med. Wschr., 110, 758-763.

30. Bierman, C.W.; Assem, E.S.K.; Mongar, J.L.: Inhibition and stimulation of histamine release by oxatomide. Int. J. Immunopharmacol., 1, 227-231 (1979).

31. Bisgaard, H.; Kristensen, J.; Sondergaard, J.: The effect of leukotrienes C_4 and D_4 on microcirculatory flow in humans. Br. J. Dermatol., 109(25), 124-125 (1983).

32. Black, J.W.; Duncan, W.A.M.; Durant, C.J. et al: Definition and antagonism of histamine H_2-receptors. Nature, 236, 385-39 (1972).

33. Boot, J.R.; Cockerill, A.F.; Dawson, W. et al: Modification of prostaglandin and thromboxane release by immunological sensitization and successive immunological challenge for Guinea Pig Lung. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 57, 159-164 (1978).

34. Borgeat, P.; Samuelsson, B.: Metabolism of arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes. Structural analysis of novel hydroxylated compounds. J. Biol. Chem., 254, 7865-7869 (1979).

35. Borgeat, P. et al: La biochimie des leucotrienes. In: Actualites Biochimiques en Rheumatologie. Masson, Paris, 154-162 (1983).

36. Borgers, M.; de Brabander, M.; Van Reempts, J. et al: Morphological evaluation of oxatomide a new anti-allergic drug in Guinea-Pig anaphylaxis. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 56, 507-516 (1978).

37. Bourne, H.R.; Lichtenstein, L.M.; Melmon, K.L.: Pharmacologic control of allergic histamine release in vitro: Evidence for an inhibitory role of 3', 5'-Adenosine monophosohate in human leukocytes. J. Immunol., 108, 695-705 (1972).

38. Bowyer, A.: Observations of the granularity of mast cells in human skin. Acta Dermatol-Venereol., 48, 574-577 (1968).

39. Branwood, A.W.: Clinical trials of pethidine. Edinburgh M.J., 50, 177-182 (1943).

40. Brasch, R.C.; Rockoff, S.D.; Kuhn, C. et al: Contrast media as histamine liberators. II: Histamine release into venous plasma during intravenous urography in man. Invest. Radiol., 5, 510-513 (1970).

41. Braunwald, E.: Mechanism of action of calcium-channel-blocking agents. New Engl. J. Med., 307(26), 1618-1627 (1982).

42. Bristow, M.R. et al: Histamine and the human heart: The other receptor system. Am. J. Cardiol., 49, 249-251 (1982).

43. Brooksby, G.A.; Donald, D.E.: Release of blood from the splanchnic circulation in dogs. Circ. Res., 31, 105-106 (1972).

44. Bullingham, R.E.S.; McQuay, H.J., Moore, R.A.: Clinical pharmacokinetics of narcotic agonist-antagonist drugs. Clin. Pharmacokin., 8(4), 332-343 (1983).

45. Burwen, S.J.; Satir, B.H.: Plasma membrane folds on the mast cells surface and their relationship to secretory activity. J. Cell. Biol., 74, 690-697 (1977).

46. Butler, E.B.: A case of hypersensitivity to pethidine in a woman in labour. Br. Med. J., 2, 715-716 (1951).

47. Cahill, H. et al: Epidural Buprenorphine for pain relief after major abdominal surgery. A controlled comparison with epidural Morphine. Anaesthesia, 38(8), 760-764 (1983).

48. Callier, J.; Engelen, R.F.; Ianniello, I. et al: Astemizole (R43512) in the treatment of hay fever. An international double-blind study comparing a weekly treatment (10 mg and 25 mg) with a placebo. Curr. Ther. Res., 29, 24-35 (1981).

49. Cambazard, F.: La degranulation du Mastocyte: Mecanismes et consequences. Ann. Dermato-Venereol., 108, 141-147 (1984).

50. Camp, R.D.R.: Prostaglandins, Hydroxy fatty acids, leukotrienes and inflammation of the skin. Clin. Experiment. Dermatol., 7, 435-444 (1982).

51. Casale, T.B. et al: Mast cells and asthma. The role of mast cell mediators in the pathogenesis of allergic asthma. Ann. Allergy., 51, 2-6 (1983).

52. Cathelin, M. et al: Comparison between the side-effects of buprenorfine and morphine in conscious man. Anesth. Analg., 37(5-6), 283-293 (1980).

53. Caulfield, J.P.; Lewis, R.A.; Hein, A. et al: Secretion in dissociated human pulmonary mast cells: involvement of intermediate filaments and evidence for solubilization of granule contents before discharge. J. Cell Biology, 85, 299-311 (1980).

54. Cawley, G.; Hoch-Ligeti, C.: Association of tissue mast cells and skin tumors. Arch. Dermatol., 83, 92-96 (1961).

55. Cerrina, J.; Denjean, A.; Gerard, A. et al: Inhibition of exercise-induced asthma by a calcium antagonist, nifedipine. Am. Rev. Respir. Dis., 123, 156-160 (1981).

56. Chakravarty, N.: Mechanism of histamine release from isolated mast cell granules by calcium. Agents actions, 13(2-3), 126-129 (1983).

57. Chand, N.; Eyre, P.: Classification and biological distribution of histamine receptor sub-types. Agents actions, 5, 277-295 (1975).

58. Charles, T.J.; Williams, S.J.; Seaton, A. et al: Histamine, basophils and ecsinophils in severe asthma. Clin. Sci., 57, 39-45 (1979).

59. Christie, G.; Gershon, S.; Gray, R. et al: Treatment of certain side effects of morphine. Br. Med. J., 1, 675-680 (1958).

60. Church, M.K.: Cromoglycate-like anti-allergic drugs: A review. Drugs of today, 14, 281-297 (1978).

61. Church, M.K.; Gradidge, C.F.: Oxatomide: Inhibition and stimulation of histamine release from human lung and leucocytes in vitro. Agents actions, 10, 4-7 (1980).

62. Church, J.; Zsoter, T.T.: Calcium antagonistic drugs: Mechanism of action. Can. J. Physiol. Pharmacol., 58, 254-264 (1980).

63. Cochrane, D.E.; Douglas, W.W.: Histamine release by exocytosis

from rat mast cells on reduction of extracellular sodium: A secretory response inhibited by Calcium, Strontium, Barium or Magnesium. J. Physiol., 257, 433-448 (1976).

64. Cohen, R.A. et al: Naloxone reversal of morphine-induced peripheral vasodilatation. Clin. Pharmacol. Ther., 28(4), 541-544 (1980).

65. Cohen, R.A.; Coffman, J.D.: Effect of morphine on cutaneous capacitance and resistance vessels. Circulation, 59, A81 (1979).

66. Colvin, R.B.; Dvorak, H.F.: Basophils and mast cells in renal allograft rejection. Lancet, 1, 212-214 (1974).

67. Colvin, R.B.; Dvorak, A.M.; Dvorak, H.F.: Mast cells in the cortical tubular epithelium and interstitium in human renal disease. Human Pathol., 5, 315-326.

68. Comroe, J.H.; Dripps, R.D.: The histamine-like action of curare and tubocurarine injected intracutaneously and intraarterially in man. Anesthesiology, 7, 260-262 (1946).

69. Creese, B.R.: Calcium ions, drug action and airways obstruction. Pharmacol. Ther., 20(3), 357-375 (1983).

70. Dahlen, S.E.; Hamson, G.; Hedqvist, P. et al: Allergen challenge of lung tissue from asthmatics bronchial contraction that corre-

lates with the release of LTC4, D4 and E4. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 1712-1716 (1983).

71. Dahlen, S.E.; Bjork, J.; Hedqvist, P. et al: Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: In vivo effects of relevance to acute inflammatory response. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 3887-3890 (1981).

72. Dahlquist, R.; Diamant, B.; Kruger, P.G.: Increased permeability of the rat mast cell membrane to sodium and potassium caused by extracellular ATP and its relationship to histamine release. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 46, 655-675.

73. Dahlquist, R.: Relationship of uptake of sodium and 45 calcium to ATP-induced histamine release from rat mast cells. Acta Pharmac. Tox., 35, 11-22 (1974).

74. De Clerck, F.; Van Reempts, J.; Borgers, M.: Comparative effects of oxatomide on the release of histamine from rat peritoneal mast cells. Agents Actions, 11, 184-192 (1981).

75. De Cree, J.; Horig, C.; Verhaegen, H.: Oxatomide in the treatment of various allergic diseases. Curr. Med. Res. Op., 6, 380--385 (1980).

76. Diamant, B.; Patkar, S.A.: Stimulation and inhibition of hista-

mine release from isolated rat mast cells. Dual effects of the inophore A23187. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 49, 183-207 (1987).

77. Diamant, B.; Kruger, P.G.: Histamine release from isolated rat peritoneal mast cells induced by Adenosine-5-Triphosphate. Acta Physiol. Scand., 71, 291-302 (1967).

78. Diamant, B.; Kazimerczak, W.; Patkar, S.A.: Does cyclic AMP play any role in histamine release from mast cells?. Allergy, 33, 50-51 (1978).

79. Diamant, B.; Grosman, N.; Stahl, P.; Thomle, S.: Effect of divalent cations and metabolic energy on the anaphilactic histamine release from rat peritoneal mast cells. Int. Archs. Allergy Appl. Immun., 47, 412-424 (1974).

80. Dixon, M.; Webb, E.C.: Enzymes. London, Longman, 47-206 (1979).

81. Dobbins, W.O.; Tomasini, J.T.; Rollins, E.L.: Electron and light microscopic identification of the mast cell of the gastrointestinal tract. Gastroenterology, 56, 268-279 (1969).

82. Douglas, W.W.; Ueda, Y.: Mast cell secretion (histamine release) induced by 48/80 calcium dependent exocytosis inhibited strongly by cytochalasin only when glycolsis is rate-limiting. J. Physiol., 234, 97-98 (1973).

83. Douglas, W.W.: Histamine and 5-Hidroxytryptamine (serotonin) and their antagonists. In: The pharmacological basis of therapeutics. Goodman, A.G.; Goodman, L.S.; Gilman, A., 6TH, Hew York, MacMillan Publishing Co. Inc., 609-646 (1980).

84. Dvorak, A.M.: Ultrastructural criteria for identification of mast cells and basophils in humans, Guinea pigs and mice. Am. Rev. Respir. Dis., 128, 49-52 (1983).

85. Dvorak, A.M.; Monahen, R.A.; Osage, J.E. et al: Crohn's disease transmission electron microscopic studies. II: Inmunologic inflammatory response, alterations of mast cells, basophils, eosinophils and the microvasculature. Hum. Pathol., 11, 606-612 (1980).

86. Dvorak, H.F.; Mihm, M.C.; Dvorak, A.M.: Morphology of delayed hypersensitivity reactions in man. J. Invest. Dermatol., 67, 391-410 (1976).

87. Eckenhoff, J.O.; Oech, S.R.: The effects of narcotic and antagonist upon respiration and circulation in man. Clin. Pharmacol. Ther., 1, 483-525 (1960).

88. Ehrlich, P.: Baitrage zur kenntnis der anilinfarbungen und ihrer verwendung in der mikroskopischen technik. Arch. Mikr. Anat., 13, 263-277 (1987).

89. Ellis, H.V.; Johnson, A.R.; Moran, N.C.: Selective release of histamine from rat mast cells by several drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther., 175(3), 627-631 (1970).

90. Emanuel, M.B.; Towse, G.D.W.: Oxatomide. A new drug combining antiallergic and antispasmogenic properties. Part I: Pharmacological studies. Drugs of Today, 16, 219-229 (1980).

91. Emanuel, M.B.; Towse, D.G.W.: Oxatomide. A new drug combining antiallergic and antispasmogenic properties. Part II: clinical studies. Drugs of Today, 16, 231-237 (1980).

92. Enerback, L.; Lundin, P.M.: Ultrastructure of mucosal mast cells in normal and compound 48/80-treated rats. Cell Tissue Res., 150, 95-99 (1974).

93. Ennis, M. et al: Calcium antagonists and histamine secretion from rat peritoneal mast cells. Agents Actions, 13(2-3), 144-148 (1983).

94. Ennis, M.; Pearce, F.L.; Weston, P.M.: Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine. Br. J. Pharmacol., 70, 329-334 (1980).

95. Ennis, M.; Truneh, A.; White, J.R. et al: Inhibition of histamine secretion from mast cells. Nature, 289, 186-192 (1981).

96. Eschenbacher, W.L. et al: Morphine sulfate inhibits bronchoconstriction in subjects with mild asthma whose responses are inhibited by atropine. Am. Rev. Respir. Dis., 130(3), 363-367 (1984).

97. Eyre, P.: Histamine H_2-receptors in the sheep bronchus and cat trachea: The action of burimamide. Br. J. Pharmacol., 48, 321--323 (1973).

98. Ezeamuzie, I.C. et al: A study of histamine release from human basophils and lung mast cells by products of lymphocite stimulation. Agents Actions, 13(2-3), 222-230 (1983).

99. Fahmy, N.R.; Sunder, B.S.; Soter, N.A.: Role of histamine in the hemodynamic and plasma catecholamine responses to morphine. Clin. Phamacol. Ther., 33, 615-620 (1983).

100. Fahmy, N.R.: Hemodynamics, plasma histamine and catecholamine concentration during an anaphylactoid reaction to morphine. Anesthesiology, 55, 329-331 (1981).

101. Fedorko, M.F.; Hirsch. J.G.: Crystalloid structures in granules of Guinea pig basophils and human mast cells. J. Cell. Biol. 26, 973-976 (1965).

102. Feldberg, W.; Paton, W.D.M.: Release of histamine from skin and muscle in the cat by opium alkaloids and other histamine

liberators. J. Physiol. (Lond), 114, 490-509 (1951).

103. Fels, A.O.S.; Pawlowski, N.A.; Cramer, E.B. et al: Human alveolar macrophages produce leukotriene B_4. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 7866-7860 (1982).

104. Ferreira, S.H.; Vane, J.R.: Prostaglandins: Their disappearance from and release into the circulation. Nature, 216, 868-873 (1967).

105. Finer, B.L.; Partington, M.W.: Pethidine and the triple response. Br. Med. J., 1, 431-434 (1953).

106. Fischer, M.M.: The diagnosis of acute anaphylactoid reactions to anesthetic drugs. Anesth Intensive Care, 9, 235-241 (1982).

107. Flacke, J.W.; Van Etten, A.; Flacke, W.E.: Greatest histamine release from meperidine among four narcotics: Double blind study in man. Anesthesiology, 39, A51 (1983).

108. Flaim, S.F.; Zelis, R.; Eisele, J.H.: Differential affects of morphine on forearm blood flow: Attenuation of sympathetic control of the cutaneous circulation. Clin. Pharmacol. Ther., 23, 542-546 (1978).

109. Foreman, J.C.; Mongar, J.L.: Effect of calcium on Dextran-indu-

ced histamine release from isolated mast cells. Br. J. Pharmacol., 46, 767-768 (1972).

110. Foreman, J.C.; Mongar, J.L.; Gomperts, B.D. et al: A possible role for cyclic AMP in the regulation of histamine secretion and the action of cromoglycate. Biochem. Pharmacol., 24, 538--540 (1975).

111. Foreman, J.C.; Mongar, J.L.; Gomperts, B.D.: Calcium ionophores and movement of calcium ions following the physiological stimulus to a secretory process. Nature, 245, 249-251 (1973).

112. Foreman, J.C.; Hallet, M.B.; Mongar, J.L.: The relationship between histamine secretion and 45 calcium uptake by mast cells. J. Physiol., 271, 193-214 (1977).

113. Foreman, J.C.; Mongar, J.L.: The role of the alkaline earth ions in anaphylactic histamine secretion. J. Physiol., 224, 753-769 (1972).

114. Foreman, J.C.; Mongar, J.L.: The interaction of calcium and strontium with phosphatidyl serine in the anaphylactic secretion of histamine. J. Physiol., 230, 493-507 (1973).

115. Foreman, J.C.; Garlan, L.G.; Mongar, J.L.: The role of calcium in secretory processes: Model studies in mast cells. Symp. Soc. Exp. Biol., 30, 193-218 (1976).

116. Frame, B.; Nixon, R.K.: Bone marrow mast cells in osteoporose of aging. New. Engl. J. Med., 279, 626-630 (1968).

117. Freinkel, R.K.; Traczyk, T.N.: The phospholipases a of epidermis J. Invest. Dermatol. 74, 169-173 (1980).

118. Frick, O.L.: Hipersensibilidad inmediata. En: Inmunologia clinica, 3, Mexico, El Manual Moderno S.A., 281-302 (1982).

119. Friedman, H.: Inmunologic techniques with pharmacologic application. In: Sie Gler, P.E.; Moyer, J.H.: Animal and clinical pharmacology techniques in drug evaluation. 3TH, Chicago, Year Book Medical Publisher, 2, 548-568 (1967).

120. Garland, L.G.; Mongar, J.L.: Differential histamine release by dextrand and the ionophore A23187: The actions of inhibitors Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 50, 27-42 (1976).

121. Garland, L.G.; Mongar, J.L.: Inhibition by cromoglycate of histamine release from rat peritoneal mast cells induced by mixtures of dextran, phosphatidylserine and calcium ions. Br. J. Pharmacol., 50, 137-143 (1974).

122. Gershon, S.; Shaw, F.H.: Morphine and histamine release. J. Pharm. Pharmacol. 12, 22-29 (1958).

123. Giertz, H.; Han, F.; Krull, P. et al: Histaminase liberating and anticoagulant activity of heparin released in anaphylactic shock in the Guinea-pig. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 33, 306-310 (1968).

124. Giff, J.H.P.: Pethidine in labour. Br. Med. J., 1, 901, (1947).

125. Glovsky, M.M.; Hugli, T.E.; Ishizaka, T. et al: Anaphylatoxin--induced histamine release with human leukocytes. Studies of C3A leukocyte binding and histamine release. J. Clin. Invest., 64, 804-807 (1979).

126. Goetzl, E.J.: Mediators of immediate hypersensitivity derived from arachidonic acid. N. Engl. J. Med., 303, 822-827 (1980).

127. Goetzl, E.J.: Mast cell mediated reactions of host defense and tissue injury: The regulatory role of eosinophil polymorphonuclear leukocytes. Inflammation, 2, 239-256 (1977).

128. Goldstein, D.J.; Halperin, J.A.; Perez, D.J.M. et al: The mast cell in body fluid homeostasis: Osmoreceptor or effector?. In: The Mast Cell. Pepys, J.; Edwards, A.M., Pitman Med., 843-870 (1979).

129. Gold, W.M.; Kessler, G.F.; Yu, D.Y.C.: Role of vagus nerves in experimental asthma in allergic dogs. J. Appl. Physiol., 33, 719-723 (1972).

130. Gomori, G.: Chloroacyl esters as histochemical substrates. J. Histochem. Cytochem, 1, 469-470 (1953).

131. Grant, J.A.; Duprec, E.; Thueson, D.O.: Complement-mediated release of histamine from human basophils possible regulatory role of microtubules and microfilaments. J. Allergy. Clin. Immunol., 60, 306-318 (1977).

132. Greaves, M.W.; Yamamoto, S.; Fairley, V.M.: Ige-mediated hypersensitivity in human skin studied using a new in vitro technique. Immunology, 23, 239-248 (1972).

133. Greaves, M.W.; Phillips, B.C.: Mast cell in disease and its pharmacologic regulation. J. Invest. Dermatol., 71, 92-94 (1978).

134. Greaves, M.W.; Yamamoto, S.; Mahzoon, B.: The mast cells inter relation-ships between histamine and prostaglandins. Clin. Exp. Dermatol., 1, 327-329 (1976).

135. Green, J.F.; Jackman, P.; Parsons, G.: The effects of morphine on the mechanical properties of the systemic circulation in the dog. Circ. Res., 42, 474-478 (1978).

136. Green, J.F.; Jackman, A.P.; Krohn, K.A.: Mechanism of morphine--induced shifts in blood volume between extracorporeal reservoir and the systemic circulation of the dog under conditions

of constant blood flow. Circ. Res., 42, 479-486 (1978).

137. Griffin, M.; Weiss, J.W.; Leitch, A.G et al: Effects of leukotriene D on the airways in asthma. N. Engl. J. Med., 308, 436--439 (1983).

138. Grosman, N.: Histamine release from isolated rat mast cells: Effect of morphine and related drugs and their interaction. Agents actions, 11, 196-203 (1981).

139. Grosman, N., Diamant, B.: Effect of ATP mast cells: Influence on anaphylactic and compound-48/80-induced histamine-release. Agents actions, 5, 108-114 (1975).

140. Grosman, N.; Diamant, B.: The influence of phosphatidyl serine on the release of histamine from isolated rat mast cells induced by different agents. Agents Actions, 5, 296-301 (1975).

141. Gwynn, C.M. et al: Bronquial provocation tests in atopic patients with allergen-specific IGG4 antibiotics. The Lancet, 1, 254-255 (1982).

142. Gwynn, C.M. et al: Role of IGG4 sub-class in chilhood allergy. The Lancet, 2, 910-911 (1978).

143. Hamberg, M.; Samuelsson, B.: On the metabolism of prostaglandins E_1 and E_2 in man. J. Biol. Chem. 246,6713-6721 (1971).

144. Hameroff, S.R.: Opiate receptor pharmacology: Mixex agonist/antagonist narcotics. Contemp. Anesth. Pract., 7, 27-43 (1983).

145. Handal, K.A. et al: Naloxone. Ann. Emerg. Med., 12(7), 433-445 (1983).

146. Harcus, A.W. et al: Buprenorfine: Experience in an elderly population of 975 patients during a year's monitored release. Br. J. Clin. Pract., 34(5), 144-146 (1980).

147. Harcus, A.H. et al: Buprenorfine in postoperative pain: Results in 7500 patients. Anaesthesia, 35(4), 971-978 (1980).

148. Harvey, C.A.; Owen, D.A.D.: Time dependence of the interaction between histamine receptors antagonists in the cardiovascular system. Br. J. Pharmacol., 68, 187-193 (1979).

149. Hashimoto, K.; Gross, B.G.; Lever, W.F.: An electron microscopic study of the degranulation of mast cell granules in urticaria pigmentosa. J. Invest. Dermatol. 46, 139-149 (1966).

150. Himori, N.; Ono, H.; Taira, N.: Dual effects of a new coronary vasodilator, diltiazem on the contractile force of the blood-perfused papillary muscle of the dog. Jap. J. Pharmacol., 25, 350-352 (1975).

151. Hirata, F.; Axelrod, J.: Phospholipid methylation and biological signal transmission. Science, 209, 1082-1090 (1980).

152. Hirata, F.: Lipomoduline et regulation des phospholipases cellulaires. In: Actualites Biochimiques en Rhumatologie. Masson, Paris, 201-213 (1983).

153. Hirschowitz, B.I.: H_2 histamine receptors. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 19, 203-244 (1979).

154. Holaday, J.W.; Pasternak, G.W.; Faden, A.I.: Naloxone pretreatment modifies cardiorespiratory, temperature, and behavioural efects of morphine. Neurosci. Lett., 37(2), 199-204 (1983).

155. Houde, R.W.: Analgesic effectiveness of the narcotic agonist--antagonist. Br. J. Clin. Pharmacol., 1(3), 297-308 (1979).

156. Howart, P.H. et al: Comparative trial of two non-sedative H_1 antihistamines, terfenadine and astemizole, for hay fever. Thorax, 39(9), 668-672 (1984).

157. Howart, P.H.; Pao, G. J-K; Durham, S.R. et al: Influence of airway reactivity on circulating histamine and neutrophil chemotactic activity after antigen bronchoprovocation in asthma. Thorax, 38, 705-711 (1983).

158. Hsu-Ho; Hickey, R.F.; Forbes, A.R.: Morphine decreases peripheral vascular resistance and increases capacitance in man. Anesthesiology, 50, 98-102 (1979).

159. Ishizaka, T.; Conrad, D.H.; Schulman, E.S. et al: Biochemical analysis of initial triggering events of ige-mediated histamine release from human lung mast cells. J. Immunol., 130(5), 2357--2362 (1983).

160. Ishizaka, K.; Tomioka, H.; Ishizaka, T.: Mechanisms of pasive sensitization. I: Presense of ige and IGG molecules on human leukocytes. J. Immunol., 105, 1459-1467 (1970).

161. Ishizaka, T.: Ishizaka, K.; Orange, R.P. et al: Pharmacologic inhibition of antigen-induced release of histamine and SRS-A mediated by human ige antibody. Fed. Proc., 29, 575-577 (1970).

162. Ishizaka, T.; Ishizaka, K.: Triggering of histamine release from rat mast cells by divalent antibodies against ige-receptors. J. Immunol., 120, 800-805 (1978).

163. Ito, Y.; Kuriyama, H.; Suzuki, H.: The effects of diltiazem (CRD-401) on the membrane and mechanical properties of vascular smooth muscle of the rabbit. Br. J. Pharmacol., 64, 503-510 (1978).

164. Jaffe, J.H.; Martin, W.R.: Opioid analgesics and antagonists. In: The pharmacological basis of therapeutics. Goodman, A.G.; Goodman, L.S.; Gilman, A., 6th, New York, Macmillan Publishing Co. Inc., 494-534 (1980).

165. Jasinsky, D.R. et al: Human pharmacology and abuse potential of the analgesic buprenorphine. Arch. Gen. Psychiatry, 35, 501--516 (1978).

166. Jennings, M.A.; Florey, H.W.; Robinson, D.S. et al: The relationship of mast cells to fat transport. Ann. N.Y. Acad. Sci., 103, 313-321 (1963).

167. Johansen, T.: Utilization of adenosine triphosphate in rat mast cells during and after secretion of histamine in response to compound 48/80. Acta pharmacol. Toxicol., 53(3), 245-249 (1983).

168. Johnson, A.R.; Moran, N.C.: Inhibition of the release of histamine from rat mast cells: The effect of cold and adrenergic drugs on release of histamine by 48/80 and antigen. J. Pharmacol. Exp. Ther., 175, 632-640 (1970).

169. Johnson, A.R.; Moran, N.C.; Mayer, S.E.: Cyclic AMP content and histamine release in rat mast cells. J. Immunol., 112, 511--519 (1974).

170. Johnson, H.G.; Chinn, R.A.; McNee, M.L. et al: LTC_4 and D_4 induce mucus secretion in tracheal submucosal glands in dogs. Int. J. Immunopharmacol., 4, 348-351 (1982).

171. Jorgensen, H.P.; Sondergaard, J.: Biosyntesis of prostaglandin by human inflammed skin. Acta Dermato-Venereol., 56, 11-13 (1976).

172. Jorg, A.; Henderson, W.R.; Murphy, R.C. et al: Leukotriene generation by eosinophyls. J. Exp. Med., 155, 390-392 (1982).

173. Jorizzo, J.L.; Sams, W.M.; Jegasothy, B.V. et al: Cimetidine as an immunomodulator: Chronic mucotaneous candidiasis as a model. Ann. Intern. Med., 92, 192-195 (1980).

174. Kaliner, M. et al: Effects of infused histamine: Correlation of plasma histamine levels and symptoms. J. Allergy Clin. Immunol., 69, 283-289 (1982).

175. Kaliner, M.; Austen, K.F.: Cyclic AMP, ATP reversed anaphylactic histamine release from rat mast cells. J. Immunol., 112, 664-674 (1974).

176. Kaliner, M.; Austen, K.F.: Cyclic nucleotides and modulation of effector systems of inflammation. Biochem. Pharmacol., 23, 763-771 (1974).

177. Kaliner, M.; Austen, K.F.: Immunological release of chemical mediators from human tissues. Annu. Rev. Pharmacol., 15, 177--189 (1975).

178. Kamikawa, Y.; Shimo, Y.: Antagonistic effect of compound 48/80 on the inhibitory actions of morphine and methionine-enkephalin on electrically-induced contractions of the Guinea-pig ileum. Br. J. Pharmac., 64, 511-518 (1978).

179. Kates, R.E.: Calcium antagonists. Pharmacokinetic properties. Drugs, 25, 113-124 (1983).

180. Katz, S.I.: Recruitement of basophils in delayed hypersensitivity reactions. J. Invest. Dermatol., 71, 70-75 (1978).

181. Kay, A.B.; Lee, T.H.: Neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis. J. Allergy Clin. Immunol., 70, 317-320 (1982).

182. Kazimierczak, W.; Diamant, B.: Mechanisms of histamine release in anaphylactic and anaphylactoid reactions. Prog. Allergy, 24, 295-365 (1978).

183. Keller, R.; Schauwecker, H.H.: Possible significance of tissue mast cells in inflammatory and regenerative processes. J. Dental Res., 51, 228-234 (1972).

184. Kirkendol, P.L.; Smoot, J.M.; Woodbury, R.A.: Interactions of morphine, 48/80 and tween-20 on pulmonary inflation pressure in dogs. Arch. Int. Pharmacodyn., 287, 282-287 (1974).

185. Klein, J.: Immunology. The science of self-nonself discrimination. 1, New York, Wiley-Interscience publication, 687 (1982).

186. Klotz, I.M.: Numbers of receptor sites from scatchard graphs: Facts and fantasies. Science, 217, 1247-1249 (1982).

187. Kobayasi, T.; Asboe-Hansen, E.: Degranulation and regranulation of human mast cells. Acta Dermato-Venereol, 49, 369-381 (1969).

188. Kobayasi,T.; Midtgard, K.; Asboe-Hansen, G.: Ultrastructure of human mast cell granules. J. Ultrastruct. Res., 23, 153-165 (1968).

189. Koopman, W.J.; Orange, R.P.; Austen, K.F.: Immunochemical and biologic properties of rat ige. III: Modulation of ige-mediated release of SRS-A by agents influencing the level of C-AMP. J. Immunol., 105, 1096-1102 (1970).

190. Kosterlitz, H.W.; Watt, A.J.: Kinetics parameters of narcotic agonists and antagonists with particular reference to naloxone. B.J. Pharmacol., 33, 266-276 (1968).

191. Kownatzki, E.; Till, G.; Gemsa, D.: A new biologic activity of histamine: Release of a chemotaxis inhibitor from lymphocytes. Monogr. Allergy, 14, 130-133 (1979).

192. Krueger, H.; Eddy, N.B.; Sumwalt, M.: The pharmacology of the opium alkaloids. Pub. Health Rep., 9165 (1941).

193. Lagunoff, D.; Martin, T.W.: Agents that release histamine from mast cells. Ann. U. Rev. Pharmacol. Toxicol., 23, 331-351 (1983).

194. Lagunoff, D.: Contributions of electron microscopy to the study of mast cells. J. Invest. Dermatol., 58, 296-311 (1972).

195. Lagunoff, D.; Pritzl, P.: Characterization of rat mast cell granule proteins. Arch. Biochem. Biophys., 173, 554-563 (1976).

196. Lagunoff, D.; Pritzl, P.; Mueller, L.: N-Acetyl-Beta-Glucosamidase in rat mast cell granules. Exp. Cell. Res., 61, 129-132 (1970).

197. Lagunoff, D.: The mechanism of histamine release from rat mast cells. Biochem. Pharmacol., 21, 1889-1896 (1972).

198. Lancet: Inflammatory mediators of asthma. The Lancet, 829-831 (1983).

199. Landry, Y.; Frossard, N.; Amellal, M.: La Calmoduline: Role physiologique et perspectives therapeutiques. Rev. Med., 34, 2117-2123 (1981).

200. Lascano, E.F.: Mast cells in human tumors. Cancer, 11, 1110--1114 (1958).

201. Lee, G. et al: Comparative effects of morphine, Meperidine and Pentazocine on cardiocirculatory dynamics in patients with acute myocardial infarction. Am. J. Med., 60, 949-955 (1976).

202. Lee, G. et al: Haemodynamic effects of morphine and nalbuphine in acute myocardial infarction. Clin. Pharmacol., Ther., 29(5), 576-781 (1981).

203. Lemanske, JR, R.F.; Barr, L.; Guthman, D.A. et al: The biologic activity of mast cell granules. V: The effects of antihistamine treatment on rat cutaneous early and late-phase allergic reactions. J. Allergy Clin. Inmunol., 72(1), 94-99 (1983).

204. Leonard, R.G. et al: Calcium-Channel blocking agents. Clin. Pharm., 1(1), 17-33 (1982).

205. Levy, J.H.; Rockoff, M.R.: Anaphylaxis to meperidine. Anesth. Analg., 61, 301-303 (1982).

206. Lewis, R.A.; Soter, N.A.; Diamond, P.T. et al: Prostaglandin D_2 generation after activation of rat and human cells with anti-IGE. J. Immunol., 129, 1627-1631 (1982).

207. Lewis, R.A.; Austen, K.F.: Mediation of local homeostasis and inflammation by leukotrienes and other mast cell-dependent compounds. Nature., 293, 103-110 (1981).

208. Lichtenstein, L.M.: Sequential analysis of the allergic response: Cyclic Amp, Calcium, and Histamine. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 49, 143-152 (1975).

209. Lichtenstein, L.M.; Margolis, S.: Histamine release in vitro: Inhibition by catecholamines and methylxantines. Science, 161, 902-903 (1968).

210. Lichtenstein, L.M.; Debernardo, R.: The immediate allergic response: In vitro action of cyclic AMP-active and other drugs on the two stages of histamine release. J. Immunol., 107, 1122--1123 (1971).

211. Lichtenstein, L.M.: The mechanism of basophils histamine release induced by antigen and by the calcium ionophore A23187. J. Immunol., 114, 1692-1694 (1975).

212. Loefler, L.J.; Lovenberg, W.; Sjoerdsma, A.: Effects of dibuty-

ryl-3', 5'-AMP-C, phosphodiesterase inhibitors and PGE_1 on compound 48/80-induced release from rat peritoneal mast cells in vitro. Biochem. Pharmacol., 20, 2287-2297 (1971).

213. Lorenz W. et al: Histamine release: H_1 and H_2-receptor antagonists ford premedication in anesthesia and surgery. A critical view based on randomized clinical trials with haemaccel and various antiallergic drugs. Agents actions, 10, 114-124 (1980).

214. Lorenz, W. et al: Histamine release in man by propanidid and thiopentone: Pharmacological effects. Br. J. Anaesth., 44, 355-368 (1972).

215. Lowenstein, E. Morphine "Anaesthetic": A perspective. Anesthesiology, 35, 563-565 (1971).

216. Lowenstein, E.; Whiting, R.B.; Bittar, D.A. et al: Local and neurally mediated effects of morphine on skeletal muscle vascular resistance. J. Pharmacol. Exp. Ther., 180, 359-367 (1982).

217. Lowenstein, E.; Hallowell, P.; Levine, F.H. et al: Cardiovascular responses to large doses of intravenous morphine in man. N. Engl. J. Med., 281, 1389-1393 (1969).

218. Lupulescu, A.P.: Cytologyc and metabolic effects of prostaglandins on rat skin. J. Invest. Dermatol., 68, 138-145 (1977).

219. Lynch, S.M.; Austen, K.F.; Wasserman, S.I.: Release of arylsulfatase a but not B from rat mast cells by noncytolytic secretory stimuli. J. Immunol., 121, 1394-1399 (1978).

220. Macglashan, JR, D.W.; Schleimer, R.P.; Peters, S.P. et al: Generation of leukotrienes by purified human lung mast cells. J. Clin. Invest., 70, 747-750 (1982).

221. Malmsten, C.L.; Palmblad, J.; Uden, A.M. et al: Leukotriene B_4: A highly potent and stereospecific factor stimulating migration of polymorphonuclear leukocytes. Acta. Physiol. Scand., 110, 449-451 (1980).

222. Marcelle, R.; Lecomte, J.: Proprietes antihistaminiques de L'astemizole chez L'asthmatique asyntomatique. Rev. Fr. Allerg. Immunol. Clin., 23, 15-17 (1983).

223. Marom, Z.; Schelhamer, J.H.; Bach, M.K. et al: Slow-reacting substances, leukotrienes C_4 and D_4, increase the release of mucus from human airway in vitro. Am. Rev. Respir. Dis., 126, 449-452 (1982).

224. Marone, G.; Kagey-Sobotka, A.; Lichtenstein, L.M.: Effects of arachidonic acid and its metabolites on antigen-induced histamine release from human basophils in vitro. J. Immunol., 123, 1669-1673 (1979).

225. Mathe, A.A.; Hedqvist, P.; Strandberg, K. et al: Aspects of prostaglandin function in the lung. N. Engl. J. Med., 296, 850--855 (1977).

226. McCullough, L.S.; Reier, C.; Delaunois, A.L. et al: The effect of D-Tubocurarine on spontaneous postganglionic symphathetic activity and histamine release. Anesthesiology, 33, 328-334 (1970).

227. McDonough, R.J.; Madden, J.J.; Falek, A. et al: Alteration of T and null lymphocyte frecuencies in the peripheral blood of human opiate addicts: In vivo evidence for opiate receptor sites on T lymphocites. J. Immunol., 125, 2539-2543 (1980).

228. McFadden, JR, E.R.: Calcium-channel blocking agents and asthma. Ann. Intern. Med., 95, 232-233 (1981).

229. Mcintosh, F.C.; Paton, W.D.M.: The liberation of histamine by certain organic bases. J. Physionl., 109, 190-219 (1962).

230. Mcquay, H.J. et al: Clinical effects of buprenorfine during and after operation. Br. J. Anaesth., 52(10), 1013-1019 (1980).

231. Mehrishi, J.N.; Mills, I.H.: Opiate receptors on lymphocytes and platelets in man. Clin. Immunol. Immunopathol., 27, 240--249 (1983).

232. Metzger, H.: The receptor on mast cells and related cells with high affinity for ige. Contemp. Top. Mol. Immunol., 9, 115-145 (1983).

233. Meynadier, J.; Michael, B.: Mediateurs lipidiques de l'inflamation (acidesgras essentiels, prostaglandines et leucotrienes) En Dermatologie. Ann. Dermatovenereol., 110, 851-860 (1983).

234. Middleton, E.: Antiasthmatic drug therapy and calcium ions. Review of pathogenesis and role of calcium. J. Pharm. Sci., 69, 243-251 (1980).

235. Mikhail, G.R.; Miller-Milinska, A.: Mast cell population in human skin. J. Invest. Dermatol., 43, 249-254 (1964).

236. Miller, H.R.P.; Jarret, W.F.H.: Intestinal mast cell response duringgg helminth expulsion in the rat. Immunology, 20, 277--288 (1971).

237. Miller, H.R.P.; Walshaw, R.: Histochemistry of intestinal mast cells during helminth expulsion in the rat. Am. J. Path., 69, 195-205 (1972).

238. Moncada, S.; Vane, J.R.: Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. Br. Med. Bull., 34, 129-136 (1978).

239. Mongar, J.L.; Svec, P.: The effect of phospholipids on anaphyladic histamine release. Br. J. Pharmacol., 46, 741-752 (1972).

240. Montagna, W.: Histology and cytochemistry of human skin. XI: The distribution of beta-glucoronidase. J. Biophys. Biochem. Cytol., 3, 343-348 (1957).

241. Montagna, W.; Noback, C.R.: Acid phosphatase and lipids in the mast cells of the rat. Science, 106, 19-23 (1947).

242. Morgan, D.J.R.; Phillips, M.J.; Moodley, I. et al: Histamine neutrophil chemotactic factor and circulating basophil levels following exercise in asthamatic and control subjects. Clin. Allergy, 12, 29-37 (1982).

243. Morselli, P.L. et al: Pharmacokinetics and metabolism of diltiazem in man (observations on healthy volunteers and angina pectoris patients). New drug therapy with a calcium antagonist. Excerta Medica, 152-168 (1979).

244. Moss, J. et al: Role of histamine in the hypotensive action of D-tubocorarine in man. Anesthesiology., 55,19-25 (1981).

245. Moss, J.; Rosow, C.E.: Histamine release by narcotics and muscle relaxants in humans. Anesthesiology., 59, 330-339 (1983).

246. Nagai, H.; Kelly, K.; Sehon, A.H.: The inhibition of histamine release by antiallergic drugs. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 56, 307-312 (1978).

247. Nagao, T.; Ikeo, T.; Sato, M.: Influence of calcium ions on responses to diltiazem in coronary arteries. Jap. J. Pharmacol., 27, 330-332 (1977).

248. Nakao, A.; Buchanan, A.M.; Potokar, D.S.: Possible involvement of phospholipase A_2 in A23187-induced histamine release purified rat mast cells. Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol., 63, 30-41 (1980).

249. Needleman, P.: Experimental criteria dor evaluating prostaglandin biosynthesis and intrinsic function. Biochem. Pharmacol., 27, 1515-1518 (1978).

250. O'Driscoll, B.R.C.; Kay, A.B.: Leukotrienes and lung disease. Thorax, 37, 241-245 (1982).

251. Oberg, B.: The relationship between active constriction and passive recoil of the veins of various distending pressures. Acta physiol. Scand., 71, 233-234 (1967).

252. Ohmori, K,; Ishii, H.; Shuto, K. et al: Pharmacological studies on oxatomide: (4) effect on the histamine release from rat iso-

lated peritoneal exudate cells (PEC) and lung slices. Folia Pharmacol. Jap., 80, 441-449 (1982).

253. Ohmori, K.; Ishii, H.; Hirayama, T. et al: Pharmacological studies on oxatomide (KW-4354): (2)Effect on the experimental models of the type 1-type 4 allergic reactions. Folia Pharmacol. Jap., 80, 261-270 (1982).

254. Opmeer, F.A.; Van Ree, J.M.: Competitive antagonism of morphine action in vitro by calcium. Eur. J. Pharmac., 53, 395-397 (1979)

255. Orr, T.S.C.; Hall, D.E.; Gwlliam, J.M. et al: The effect of disodium cromoglycate on the release of histamine and degranulation of rat mast cell induced by compound 48/80. Life Sciences, 10, 805-812 (1971).

256. Ouwendijk, R.J. TH.; Zijlstra, F.J.; Wilson, J.H.P.: Mastocytosis and prostaglandinas. Br. J. Dermatol., 107, 613-614 (1982).

257. Owen, D.A.A.: Histamine receptors in the cardiovascular system. Gen. Pharmacol., 8, 141-156 (1977).

258. Padawer, J.: Phagocytosis of particulate substances by mast cells. Lab. Invest., 25, 320-330 (1971).

259. Page, C.P. et al: Paf-acether: A putative mediator of asthma and inflammation. Agents actions, 13, 177-183 (1983).

260. Palade, G.E.: Intracellular aspects of the process of protein secretion. Science, 189, 347-358 (1975).

261. Parish, W.E.: Short-time anaphylactic IGG antibiotics in human serum. The Lancet, 1, 591-592 (1970).

262. Parkhouse, J.; Pleury, B.J.; Rees, J.M.H.: Narcotic analgesics and antagonists in: Analgesic drugs. 1TH, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 8-41 (1979).

263. Parsons, M.E.; Owen, D.A.A.; Durant, G.J. et al: Dimaprit-|S-|3--(N,N-Dimethylamino) Propyl|isothiourea|-A highly specific histamine H_2-receptor agonist. I:Pharmacology. Agents actions, 7, 31-37 (1977).

264. Patel, K.R.: Calcium antagonists in exercise-induced asthma. Br. Med. J., 282, 932-933 (1981).

265. Paton, W.D.: The effects of muscle relaxants other than muscular relaxation. Anesthesiology, 20, 453-463 (1959).

266. Paton, W.D.M.: Histamine release by compounds of simple chemical structure. Pharmacol. Rev., 9, 269-328 (1957).

267. Patterson, R.; Chung-Hsin, Ts'AO.; Suszko, I.M.: Heterogeneity of bronchial lumen mast cells which are homogeneus by electron

microscopy. J. Allergy. Clin. Immunol., 65, 278-285 (1980).

268. Pearce, F.L. et al: Inhibition by disodium cromoglycate of anaphylactic histamine secretion from rat peritoneal mast cells in the presence of phosphatidylserine. Agents actions, 13(2-3), 215-215 (1983).

269. Pearce, F.L., et al: Histamine secretion from mast cells treated with chlortetracycline (aureomicin): A novel calcium ionophore. Agents actions, 13(2-3), 117-122 (1983).

270. Pearce, F.L.; Behrendt, H.; Blum, U. et al: Isolation and study of functional mast cells from lung and mesentery of the Guinea pig. Agents actions, 7, 45-58 (1977).

271. Peters, S.P.; Kagey-Sabotka, A.; Macglashan, D.W. et al: The modulation of human basophils histamine release by products of the 5-lypoxygenase pathway. J. Immunol., 129, 797-799 (1982).

272. Peters, S.P.; Schulman, E.S.; Schleimer, R.P. et al: Dispersed human lung mast cells: Pharmacologic aspects and comparison with man lung tissue fragments. Am. Rev. Respir. Dis., 126, 1034-1042 (1982).

273. Peters, S.P.; Macglashan, JR. D.W.; Schulman, E.S. et al: Arachidonic acid metabolism in purified human lung mast cells. J. Immunol., 132(4), 1972-1979 (1984).

274. Peters, S.P.; Siegel, M.I.; Kagey-Sobotka, A. et al: Lipoxygenase products modulate histamine release in human basophyls. Nature, 292, 455-459 (1981).

275. Philbin D.M., Moss, J.; Akins, C.W. et al: The use of H_1 and H_2 histamine blockers with high dose morfine anestesia: A double blind study. Anestesiology., 55, 292-296 (1981).

276. Philips, S.M.; Colley, D.G.: Immunologic aspects of host responses to schistosomiasis: Resistance, immunopatology and eosinophil involvement. Prog. Allergy, 24, 49-87 (1978).

277. Powell, J.R. et al: Identification and specific blockade of two receptors for histamine in the cardiovascular system. J. Pharmacol. Exp. Ther., 196, 1-14 (1976).

278. Pretlow, T.G.; Cassidy, I.M.: Separation of mast cells in successive stages of differentiation using programmed gradient separation. Am. J. Pathol., 61, 323-332 (1970).

279. Pruzansky, J.J.; Grammer, L.C.; Patterson, R. et al: Dissociation of IGE from receptors on human basophils. I: Enhanced passive sensitization for histamine release. J. Immunol., 131(4), 1949-1953 (1983).

280. Pugh, D.; Walker, P.G.: Histochemical localization of beta-glucuronidase and N-acetyl-beta-glucosaminidase. J. Histochem.

cytochem., 9, 105-106 (1961).

281. Rademecker, M.: Inhibition of allergen-mediated histamine release from human cells by ketotifen and oxatomide. Respiration, 41, 45-55 (1981).

282. Rebel, A.; Riberi, P.; Bregeon, P. et al: Mastocytes et remaniements du tissu osseux. Path. Biol., 22, 213-220 (1974).

283. Reeves, J.C.: On modification of anesthetic processes by hypodermic injection of narcotics. Am. J. Med. Sc., 71, 374-391 (1876).

284. Richards, D.M.; Brogden, R.N.; Heel, R.C. et al: Astemizole a review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. Drugs, 28, 38-61 (1984).

285. Richards, D.M.; Brogden, N.N.; Heel, R.C. et al: Oxatomide. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. Drugs, 27, 210-231 (1984).

286. Robertson, I.; Greaves, M.W.: Responses of human skin blood vessels to synthetic histamine analogues. Br. J. Clin. Pharmacol., 5, 319-322 (1978).

287. Robinson, D.; Stirling, J.L.: N-acetyl-beta-glucosaminidases

in human spleen. Biochem. J., 107, 321-327 (1965).

288. Rocklin, R.E.: Role of histamine as a modulator of cellular immune function. Monogr. Allergy, 14, 134-137 (1979).

289. Rockoff, S.D.; Brasch, R.; Kuhn, C. et al: Contrast media as histamine liberators. I: Mast cell histamine release in vitro by sodium salts of contrast media. Invest. Radiol., 5, 503-509 (1970).

290. Rohlich, P.; Anderson, P.; Uvnas, B.: Electron microscopic observations on compound 48/80-induced degranulation in rat mast cells. J. Cell. Biol., 51, 465-483 (1971).

291. Romagnoli, A.; Keats, A.S.: Comparative hemodynamic effects of nalbuphine and morphine in patients with coronary artery disease. Cardiovasc. Dis. 5, 19-24 (1978).

292. Rosow, C.E. et al: Correlation of cardiovascular effects with increases in plasma histamine. Anestesiology, 53, 8270 (1980).

293. Rosow, C.E. et al: Histamine release during morphine and fentanyl anesthesia. Anesthesiology, 56, 93-96 (1982).

294. Rosow, C.E. et al: Cutaneus signs of histamine release following butorphanol or morphine. Anesthesiology, 57(3), A355 (1982).

295. Rothschild, A.M.: Histamine release by basic compounds. In: Handbook of experimental pharmacology. Silva. M., 18th., I. Berlin, Springer-Verlag., 386-430 (1966).

296. Roy, A.C.; Warren, B.T.: Inhibition of C-AMP phosphodiesterase by disodium cromoglycate. Biochem. Pharmacol., 23, 917-921 (1974).

297. Saliba, M. J. JR: Heparin's endogenous function, primarily anticellular-destructive, incidentally anticoagulant, Is dose-, source- and PH-dependent. Thromb. Haemostas., 40, 200-202 (1978).

298. Samuelsson, B.: Leukitrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. Science, 220, 568-572 (1983).

299. Samuelsson, B.; Granstrom, E,; Green, K. et al: Prostagiandins Annu. Rev. Biochem., 44, 669-694 (1975).

300. Samuel, I.O. et al: Central haemodynamic and forearm vascular effects of morphine in patients after open heart surgery. Br. J. Anaesth., 52(12), 1237-1246 (1980).

301. Schachter, M.: The release of histamine by pethidine, atropine, quinine and other drugs. Br. J. Pharmacol., 7, 646-654 (1952).

302. Schellemberg, R.R.; Johnston, M.E.; Bach, M.K. et al: Leukotrienes modulate mast cell histamine release. Fed. Proc., 40, 101-104 (1981).

303. Schleimer, R.P.; Schulman, E.S.; Macglashan JR., D.W. et al: Effect of dexamethasone on mediator release from human mast cells. J. Clin. Invest., 71, 1830-1838 (1983).

304. Schmidt, C.F.; Livingstone, A.E.: The action of morphine on the mammalian circulation. J. Pharmacol. Exp. Ther., 47, 411--441 (1933).

305. Schmutzler, W.; Poblete-Freundt, G.; Rauch, K. et al: Reponse to immunologic or cholinergic stimulation of isolated mast cells from man, Guinea Pig and rat. Monogr. Allergy, 14, 228--232 (1979).

306. Schoenfeld, M.R.: Acute allergic reactions to morphine, codeine, meperidine hydrochloride and opium agicaloids. N.Y.J. Med., 60, 2591-2593 (1960).

307. Schulman, E.S.; Macglashan, D.W.; Peters, R.P. et al: Human lung mast cells: Purification and characterization. J. Immunol. 129, 2662-2675 (1982).

308. Schulman, E.S.; Adkinson, JR. N.F.; New Ball, H.H.: Cyclooxyge-

nase metabolites in human lung anaphylaxis: Bronchi VS parenchyma. J. Appl. Physiol., 53, 589-595 (1982).

309. Schulman, E.S.; Kagey-Sobotka, A.; Macglashan, JR. D.W. et al: Heterogeneity of human mast cells. J. Immunol., 131(4), 1936--1941 (1983).

310. Schurig, J.E.; Cavanaugh, R.L.; Buyniski, S.P.: Effect of butorphanol and morphine on pulmonary mechanics, arterial blood pressure and venous plasma histamine in the anesthetized dog. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 233(2), 296-304 (1978).

311. Schwartz, L.B.; Austen, K.F.: Enzymes of the mast cell granule. J. Invest. Dermatol., 74, 349-353 (1980).

312. Scott, D.H. et al: Haemodynamic changes following buprenorphine and morphine. Anaesthesia, 35(10), 957-961 (1980).

313. Sear, J.W.: Buprenorfine for postoperative analgesia. Br. J. Anaesth., 51(1), 71-77 (1979).

314. Serhan, C.N.; Radin, A.; Smolen, J.E. et al: Leukotriene B_4 is a complete secretagogue in human neutrophils: A kinetic analysis. Biochem. Biophys. Res. Commun., 107, 1006-1012 (1982).

315. Serhan, C.N.; Fridovich, J.; Goetzl, E.J. et al: Leukotriene

B_4 and phosphatidic acid are calcium ionophores: Studies employing arsenazo III in liposomes. J. Biol. Chem., 257, 4746-4752 (1982).

316. Shaff, R.E.; Beaven, M.A.: Increased sensytivity of the enzymatic isotopic assay of histamine measurement of histamine in plasma and serum. Anal. Biochem., 94, 425-430 (1979).

317. Sieghart, W.; Theoharides, T.C.; Alper, S. et al: Calcium-dependent protein phosphorylation during secretion by exocytosis in the mast cell. Nature, 275, 329-331 (1978).

318. Siraganian, R.P.; Hook, W.A.: Complement-induced histamine release from human basophils. II: Mechanism of the hitamine release reaction. J. Immunol., 110, 639-641 (1976).

319. Skidmore, I.F. et al: The mediators of bronchial asthma and the mechanism of their release. Agents Actions, 14, 33-58 (1984).

320. Slavin, M.I.: Demerol premedication in the ambulatory patient. Oral Surg. Oral Med. Oral Path., 3, 1159-1167 (1950).

321. Solley, G.O.; Gleich, G.J.; Jordon, R.E. et al: The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction its dependence upon ige antibodies. J. Clin. Invest., 58, 408-420 (1976).

322. Sollman, T. Pilcher, J.D.: Morphine evokes the triple response in human skin. J. Pharmacol., 9, 309-314 (1917).

323. Soli, A.; Walsh, J.H.: Regulation of gastric acid secretion. Annu. Rev. Physiol., 41, 35-53 (1979).

324. Soter, N.A.; Wasserman, S.I.; Austen, K.F. et al: Mast cell mediator release and alteration of lung function in individuals with cholinergic urticaria. N. Engl. J. Med., 302, 604-608 (1980).

325. Soter, N.A.; Lewis, R.A.; Corey, E.J. et al: Local effects of synthetic leukotrienes (LTC_4, LTD_4, LTE_4, and LTB_4) in human skin. J. Invest. Dermatol., 80, 115-119 (1983).

326. Soter, N.A.: Mast cells in cutaneous inflammatory disorders. J. Invest. Dermatol., 80(6), 228-258 (1983).

327. Soter, N.A.: Urticaria and angioedema. In: Current perspectives in immunodermatology. Mackie, R.M. 1th, Edimburg, Churchill Livingstone, 22-36 (1984).

328. Soter, N.A.; Mihm, M.C.; Dvorak, H.F. et al: Cutaneous necrotizing venulitis: A sequential analysis of the morphological alterations occurring after mast cell degranulation in a patient with a unique syndrom. Clin. Exp. Immunol., 32, 46-58 (1978).

329. Souteyrand, P.; Cambazard, F.; Mauduit, G. et al: Urticaire pigmentaire tardive a diffusion systemyque associee a un carcinome pharynge. Ann. Dermato-Venereol., 108, 577-582 (1981).

330. Spicer, S.S.: Simson, J.A.V.; Farrington, J.E.: Mast cell phagocytosis of red blood cells. Ann. J. Path., 801, 481-498 (1975).

331. Sredni, B. et al: Ultrastructural biochemical and functional characteristics of histamine-containing cells cloned from mouse bone marrow: Tentative identification as mucosal mast cells. J. Immunol., 131(2), 915-922 (1983).

332. Stanley, T.H.; Gray, N.H.; Stanford, W. et al: The effects of highdose morphire on fluid and blood requeriments in open heart operations. Anesthesiology, 38, 536-541 (1971).

333. Stenson, W.F.; Parker, C.W.; Sullivan, T.J.: Augmentation of IGE-mediated release of histamine by 5-hydroxyeicosatetraenoic acid and 12-Hydroxyeicosatetraenoic acid. Biochem. Biophys. Res. Commun., 96, 1045-1048 (1980).

334. Stenson, W.F.; Parker, C.W.: Monohydroxyeicosatetraenoic acids (hetes) induces degranulation of human neutrophils. J. Immunol., 124, 2100-2105 (1980).

335. Stoelting, R.G.: The hemodynamic effects of pancuronium and

d-tubocurarine in anesthetized patients. Anesthesiology, 36, 612-615 (1972).

336. Stoelting, R.K.; Gibbs, P.S.: Hemodynamic effects of morphine and morphinenitrous oxide in vascular heart disease and coronary artery disease. Anesthesiology, 38, 45-52 (1973).

337. Sutherland, E.W.: On the biological role of cyclic AMP. JAMA, 214, 1281-1283 (1970).

338. Szentivanyi, A.: The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial allergy. J. Allergy, 42, 201-203 (1968).

339. Tallarida, R.J.; Jacob, L.S.: The dose-response relation in pharmacology. New York, Springer-Verlag, 49-84 (1979).

340. Tanizaki, Y. et al: Inhibitory effect of nifedipine and cromolyn sodium on skin reactions and ^{45}Ca uptake and histamine release in rat mast cells induced by various stimulating agents. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol, 72(2), 102-109 (1983).

341. Theoharides, T.C.; Sieghart, W.; Greengard, P. et al: Antiallergic drug cromolyn may inhibit histamine secretion by regulating phosphorylation of a mast cell protein. Science, 207, 80-82 (1980).

342. Thomas, E.T.: The effect of d-tubocurarine chloride in blood pressure of anaesthetized patients. Lancet, 2, 772-773 (1957).

343. Thomas, M. et al: Haemodynamic effect of morphine in patients with acute myocardial infarction. Br. Heart J., 27, 863-875 (1965).

344. Timmis, A. D. et al: Haemodynamic effects of intravenous morphine in patients with acute myocardial infarction complicated by severe left ventricular failure. Br. Med. J., 280, 980-982 (1980).

345. Triggle, C.R.; Swamy, V.C.; Triggle, D.J.: Calcium antagonists and contractile responses in rat vas deferens and Guinea pig ileal smooth muscle. Can. J. Physiol. Pharmacol., 57, 804-818 (1979).

346. Tritthart, H.: Pharmacology and electrophysiology of calcium ion antagonists. Clin. Invest. Med., 3, 1-7 (1980).

347. Trotter, C.M.; Orr, T.S.C.: A fine structure study of some cellular components in allergic reactions. I: Degranulation of human mast cells in allergic asthma and perennial rhinitis. Clin. Allergy, 3, 411-425 (1973).

348. Trotter, C.M.; Orr, T.S.C.: A fine structure study of some ce-

llular components in allergic reactions. II: Mast cells in normal and atopic human skin. Clin. Allergy, 4, 421-433 (1974).

349. Truneh, A.; White, J.R.; Pierce, F.L.: Effect of ketotifen and oxatomide on histamine secretion from mast cells. Agents Actions, 12, 206-209 (1982).

350. Uvnas, B.; Aborg, C.H.; Bergendoff, A.: Storage of histamine in mast cells. Evidence for an ionic binding of histamine to protein carboxyls in the granule heparin-protein complex. Acta Physiol. Scand., 336, 3-26 (1970).

351. Vaghy, P.L.; Johnson, J.D.; Matlib, M.A. et al: Selective inhibition of sodium-induced calcium release from heart mitochondria by diltiazem and certain other calcium antagonistic drugs. J. Biol. Chem., 257, 600-602 (1982).

352. Van Arman, C.G.; Sturtevant, F.M.: Release of histamine by meperidine. Fed. Proc., 17, 416-425 (1958).

353. Van Breeman, C.; Hwang, O.; Meisheri, K.D.: The mechanism of inhibitory action of diltiazem on vascular smooth muscle contractility. J. Pharmacol. Exp. Ther., 218, 459-463 (1981).

354. Van Cauwenberge, P.B.: Nasal challenge test with astemizole.

In: Astemizole a new non-sedative, long-acting H_1 antagonist. Oxford, Medical Education Services, 55-62 (1984).

355. Van Reempts, J.; de Clerck, F.; Borgers, M.: Oxatomide protects againts degranulation of rat peritoneal mast cells during in vitro challenge with antigen or compound 48/80. Ultrastructural aspects. Agents actions, 11, 117-183 (1981).

356. Van Waume, J.; Awouters, F.; Niemegeers, C.J.E. et al: In vivo pharmacology of astemizole, a new type of H_1-antihistaminic compound. Arch. Int. Pharmac. Ther., 251, 39-51 (1981).

357. Vander-Mallie, R.; Ishizaka, T.; Ishizaka, K.: Lymphocytes bearing FC receptors for IGE. VIII: Affinity of mouse IGE for FCR on mouse B lymphocytes. J. Immunol., 128, 2306-2311 (1982).

358. Vasko, J.S.; Henney, R.P.; Oldham, H.N.: Mechanism of action of morphine in the treatment of experimental pulmonary edema. Am. J. Cardiol., 18, 873-883 (1966).

359. Walters, E.H. et al: Effects of calcium channel blockade on histamine induced bronchoconstriction in mild asthma. Thorax, 39(8), 572-575 (1984).

360. Ward, J.M.; McGrath, R.L.; Weil, J.V.: Effects of morphine on the peripheral vascular response to sympathetic stimulation. Am. J. Cardiol.. 29, 659-666 (1972).

361. Wasserman, S.I.: Mediators of immediate hypersensitivity. J. Allergy Clin. Inmunol., 72(2), 101-119 (1983).

362. Watanabe, N.; Kobayashi, A.: Sensitivity of passive cutaneous anaphylaxis in rats. I: Inverse relationship between PCA sensitivity and amount of IGE present on mast cells. Int. Arch. Allergy Appl. Inmunol., 72(1), 53-58 (1983).

363. Weiler, J.M.; Yurt, R.W.; Fearon, D.T. et al: Modulation of the formation of the amplification convertase of complement, C3B, BB, by native and comercial heparine. J. Exp. Med., 147, 409-421 (1978).

364. Weinstock, A.; Albright, J.T.: The fine structure of mast cells in normal human gingiva. J. Ultrastruc. Res., 17, 245-256 (1967).

365. Weissmann, G.: The eicosanoids of asthma. N. Engl. J. Med., 308, 454-462 (1983).

366. Wells, J.V.: Mecanimos inmunitarios de daño a los tejidos. En: Inmunologia Clinica, 3, Mexico, El Manual Moderno S.A., 197--212 (1982).

367. Wilkinson, D.I.; Walsh, J.T.: Prostaglandin biosynthesis and dermis of joung mous skin, and the effects of calcium and cyclic nucleotides. J. Invest. Dermatol., 68, 210-214 (1977).

368. Wilkinson, D.I.; Orenborg, E.K.: Effect of prostaglandins on cyclic nucleotids levels in cultured keratinocytes. Prostaglandins, 17, 419-429 (1979).

369. Winslow, C.M.; Austen, K.F.: Enzymatic regulation of mast cell activation and secretion by adenylate cyclase and cyclic AMP--dependent protein kinases. Fed. Proc., 41, 22-27 (1982).

370. Wintroub, B.U.; Stern, R.S.: Cutaneus drug reactions. In: Current perspectives in Immunodermatology, Mackie, R.M., 1th Ed., Edimburg, Churchill Livingstone, 75-97 (1984).

371. Wintroub, B.U.; Mihm, M.C.; Goetzl, E.J. et al.: Morphologic and functional evidence for release of mast cell products in bullous pemphigoid. New. Engl. J. Med., 298, 417-421 (1978).

372. Wybran, J.; Appelboom, T.; Famaey, J.P. et al: Suggestive evidence for receptors for morphine and methioninenkephaline on normal blood T-lymphocytes. Immunol., 123, 1068-1070 (1979).

373. Yoo, D.; Lessin, L.S.; Jensen, W.N.: Bone-marrow mast cells in lymphoproliferative disorders. Ann. Int. Med., 88, 753-757 (1978).

374. Yurt, R.W.; Leid, R.W.; Spragf. J. et al: Immunologic release of heparin from purified rat peritoneal mast cells. J. Immunol.

118, 1201-120[illegible]7).

375. Yurt, R.; Austen, K.F.: Preparative purification of the rat mast cell chimase. Characterization and interaction with granule components. J. Exp. Med., 146, 1405-1419 (1977).

376. Zelis, R.; Mansour, E.J.; Capone, R.J.: The cardiovascular effects of morphine: The peripheral capacitance and resistance vessels in human subjects. J. Clin. Invest., 54, 1247-1258 (1974).

377. Zelis, R.; Flaim, S.F.; Eisele, J.H.: Effects of morphine on reflex arteriolar constriction induced in man by hipercapnia. Clin. Pharmacol. Ther., 22, 172-178 (1977).

378. Zeppa, R.; Grossekreutz, D.C.; Sugioka, K.: Histamine release into the circulation by meperidine. proc. Soc. Exp. Biol. Med., 106, 794-796 (1961).

379. Ziboh, V.A.; Lord, J.T.; Vematsu, S. et al: Activation of phospholipase A_2 and increased release of prostaglandin precursor from skin by ultraviolet irradiation. J. Invest. Dermatol., 70, 211-218 (1978).

380. Zsoter, T.T.; Church, J.G.: Calcium antagonists. Pharmacodynamic effects and mechanism of action. Drugs, 25, 93-112 (1983).

381. Zuck, D.: A case of pethidine sensitivity. Br. Med. J., 1, 125--126 (1951).

382. Cambazard, F.: Les fonctions du mastocyte. Ann. Dermato-Venereol., 110, 75-79 (1983).

383. Huther, K.J.; Renftle, G.; Barraud, N. et al: Inhibitory activity of terfenadine on histamine-induced skin wheals in man. Europ. J. Clin. Pharmacol., 12, 195-199 (1977).

384. Townley, R.G.; Ryo, U.Y.; Kang, B.: Bronchial sensitivity to metacholine in asthmatic subjects free of symptoms for one to 21 years. J. Allergy, 47, 91-95 (1971).

385. Koelle, G.B.: Neuromuscular blocking agents. In: The pharmacological basis of therapeutics. Goodman, A.G.; Goodman, L.S.; Gilman, A., 6th, New York, MacMillan Publishing Co. Inc., 582--583 (1980).

386. Savarese, J.J.: The autonomic margins of safety of metocurine and d-tubocurarine in the cat. Anesthesiology, 50, 40-46 (1979).

387. Lopker, A.; Abood, L.G.; Hoss, W. et al: Stereoselective muscarinic acethylcholine and opiate receptors in human phagocytic. Biochem. Pharmacol., 29, 1361-1365 (1980).

388. Reches, A. et al: Do human platelets have opiate receptors?. Nature, 288, 382-383 (1980).